

## 6. 寄生動物部

部長 野崎 智 義

### 概 要

当部は、原虫及び蠕虫による感染症全般に係る基礎ならびに応用研究を行っている。疾患対象としては、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ミクロスポリジアなどの腸管寄生性の原虫、アcantアアメーバ等自由生活性アメーバ等原虫、トキソプラズマ・マラリア原虫などの単細胞真核生物である原生動物（原虫）による感染症と、条虫・回虫・肺吸虫・アニサキス・エキノコックス症など、多細胞真核生物である蠕虫による感染症が挙げられる。これら寄生虫感染症の国内外の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を継続的に行った。また、寄生虫感染症に対する検査・診断法の開発・評価、治療法の創成に繋がる基盤的な研究を行った。同時に、寄生虫感染症の病理と寄生・病原機構の分子レベルでの理解を目指した基礎研究を行った。また、各寄生虫に関する依頼検査、レファレンス業務、研修、国際協力活動を行った。

第一室では、腸管原虫症、特に赤痢アメーバ症・ジアルジア症・クリプトスポリジウム症・ミクロスポリジア症の診断法開発や疫学・分子疫学研究を行った。また赤痢アメーバの病原・代謝機構の統合的解明を目指す研究を展開した。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。更に、トキソプラズマ症の病原機構に関する研究を行った。

第二室においては、食品由来寄生蠕虫症（アニサキス症、肺吸虫症、横川吸虫症・異形吸虫症、裂頭条虫症、テニア症、有鉤囊虫症など）、ならびに動物由来寄生蠕虫症（エキノコックス症、アライグマ回虫症、トキソカラ症など）を対象とし、遺伝子診断法や血清診断法開発のための基礎的研究、ならびに疫学的研究を展開した。肺吸虫症に関しては、その検査診断法開発に不可欠な寄生虫材料の採取や疫学的情報収集を海外の流行地において

行った。わが国には分布しないとされたアジア条虫症の国内集団感染事例が発生し、その実態を調査した。エキノコックス症については馬における感染実態調査、ならびに、食肉衛生検査所職員を対象に分子病理診断に関する研修事業を行った。一方、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体（病理組織標本を含む）について、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、検査・診断のサポートを行った。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、住血吸虫症、赤痢アメーバなどを主な研究対象としている。マラリアや住血吸虫は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検査業務や途上国での寄生虫対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めた。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・再興研究事業費、顧みられない病気に関する研究等）、文部省科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス財団政策創薬総合研究事業費等を取得した。人事面では、再任用職員として、川中正憲、古屋宏二、朝日博子、客員研究員として影井昇、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として佐藤暖、渡辺恒二、高岡紀子、岡田麻美、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、柴田勝優、荒川京子、梅原梓里、Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed, Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として牧内貴志、青沼

宏佳、坪井久美子、研究生として Afzal Husain, Aleyla Escueta-de Cadiz, Gil Mallari Penuliar, 非常勤職員として、村上裕子、武藤麻紀、榊田京子、中曾根英子、臨時研究補助員として田原美智留、賀川千里、古川敦、福士路花が、実習生として間瀬望、花館有希、丸茂このみ、が在籍し、研究等に従事した。

## 業績

### 調査・研究

#### I. 検査法・診断法・不活化法の開発

##### 1. 原虫症診断法・検出法・不活化法の開発

###### (1) ジアルジア迅速診断検査法の開発

国内外で重要な消化管寄生性原虫であるジアルジア症の抗原検査用モノクロナル抗体を前年度開発し、本年度はこれらの抗体を用いたマイクロプレート ELISA における特異性ならびに感度を検討した。固相化および検出抗体にはそれぞれエピトープの異なるモノクロナル抗体を用い、ヒト原虫感染症例の糞便試料として顕微鏡あるいは DF 法等でジアルジア、クリプトスポリジウム、赤痢アメーバならびにサイクロスポラ陽性であった試料、またこれらの原虫は陰性であった試料を用いて試験を行った。結果は特異性 96.6%、感度 62.5%であり、感度向上が課題であった。検出抗体のビオチン化またポリクロナル抗体の利用が問題解決法として考えられた。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株式会社）]

###### (2) 畜産排水からのクリプトスポリジウムの簡便な回収法

畜産排水は河川等公共用水のクリプトスポリジウム汚染の主要な汚染源となっており、そこに含まれる原虫の量、および生残性は感染リスクに大きく関連する。この点に関し、畜産排水は原虫を高濃度に含む一方、濁質、挟雑物も高濃度に含むことから原虫を迅速簡便に精製、回収する技術開発は重要である。使用法が簡便で市販試薬として入手可能な高分子凝集剤であるポリグルタミン酸の畜産排水に対する適用を試みた結果、凝集剤濃度を 4mg/10 ml に調整し遠心操作により 10 分程度で 50% の回収率を確保することが可能であることが示され、ポリグルタミン酸凝集剤の原虫回収における有用性が明らか

となった。

[八木田健司、村上裕子]

###### (3) 河川水試料からのクリプトスポリジウム遺伝子検出法の検証

現行の河川水試料のクリプトスポリジウム検査は顕微鏡検査が行われており、遺伝子検出法の応用が期待されている。衛生研究所、水道事業体、民間検査機関の協力を得て、遺伝子検出法の感度試験、添加回収試験、並びに河川水試料からの顕微鏡法と遺伝子検出法の比較試験を実施した。いずれの協力機関においても使用可能であることを示す結果が得られた。すなわち、RT-LAMP 法、qRT-PCR 法のいずれにおいても、遺伝子検出法が高感度であることが改めて確認された。添加回収実験で添加試料から陽性、未添加試料から陰性と理論どおりの結果が得られた。反応阻害物の混入が心配され、鋳型量を抑えること、あるいは RT-LAMP 法においては阻害を低減する試薬の使用により阻害は回避されることが示された。河川試料からのクリプトスポリジウム等の検出については、顕微鏡陽性試料では遺伝子検出法で概ね陽性が得られ、qRT-PCR 法増幅産物からはクリプトスポリジウム等の塩基配列が確認され、RT-LAMP 法増幅産物の電気泳動パターンに問題なかった。検証に使用した異なるプライマーによる 2 つの遺伝子検出法の判定結果は、概ね一致した。[泉山信司、岸田直裕（国立保健医療科学院水道工学部）、猪又明子（東京都健康安全研究センター）、竹内潤子（愛媛県立衛生環境研究所）、古川一郎（神奈川県衛生研究所）、勝山志乃（神奈川県広域水道企業団）、金見 拓（東京都水道局）、武田万里子（大阪市水道局）、荘司浩史（茨城県企業局水質管理センター）、溝口智子（(財)岐阜県公衆衛生検査センター）、松田信行（(株)環境科学研究所）、百田隆祥（栄研化学（株））、山本純子（タカラバイオ(株)）]

###### (4) 新規クリプトスポリジウム濃縮法としての粉体ろ過法の検証

新規クリプトスポリジウム濃縮法として開発した粉体ろ過法を、水道事業体の協力を得て検証した。積算ろ過水量、捕捉性能、並びに回収率を評価した結果、いずれ

の担当協力機関においても使用可能であることを示す結果が得られた。すなわち、浄水目的に開発された粉体ろ過法であったが、浄水用の 37mm ユニットに比べて大きな 90mm のろ過ホルダーを使用し、原水への応用も可能であった。原水のろ過水量は 3~63L と濁度によって変動し、原水濁度が 10 度を超える場合は、複数回に分けて濾過を行うことで、現行検査法の 10L をろ過可能と考えられた。浄水のろ過水量は 24 時間で 200~500L となり、濃縮物の一部だけで現行の検査水量 20L が可能で、緊急時の 120L の濃縮に対応できる水量であった。ろ過法単体としての捕捉性能は概ね理論値に近い性能が得られた。[泉山信司、高藤 俊（浜松市上下水道部）、佐々木美江（宮城県仙南・仙塩広域水道事務所）、川口有希子（桐生市水道局）、水野 聰（新潟市水道局）、渡邊洋大（神奈川県企業庁水道水質センター）]

#### (5) Colloidal dye を利用した抗 *Encephalitozoon spore wall* 抗体の検出に関する基礎的検討

ミクロスポリジア *Encephalitozoon* はヒトを含めた多数の動物種に感染し、診断は血清反応が有用とされている。現在、精製 spore/抽出抗原/遺伝子組換え抗原による ELISA などの酵素抗体法、蛍光抗体法が主流であるが、標識二次抗体を必要とするため疫学的に興味深いすべての動物種に応用できない。そこで、欧米で現在も使用されている carbon immunoassay に注目し、India ink の代わりに繊維染色剤の colloidal dye を利用した抗体測定のための基礎的検討を行った。市販の colloidal dye の三種類（dark blue、red、brown）の 5%懸濁液を調製し、dye 液と高抗体価の代表的血清、spore 懸濁液（約 2%）の三者を色々な混合条件で反応させ鏡検下で観察した結果、dye の 1.5~2.25%濃度で一様に spore 壁に対する非常に強い吸着が起こることが分かった。三種類の dye の中では blue 系の判別が最も容易であった。最適条件下で ELISA (+)のウサギ血清 10 例は何れも陽性反応、ELISA (-)のウサギ血清 5 例は陰性反応を示した。本反応は二次抗体が不要、操作が簡単、非特異反応が識別できるなど試験法として有利な面が多いことから、今後、色々な動物種の血清試料に当たるなど診断への応用・疫学的研究のための更なる検討を進めたい。[古屋宏二、織田将貴（帯広畜産大）、五十嵐慎（帯広畜産大）]

#### (6) マラリア迅速診断キットの検証

原虫抗原を検出するマラリア迅速診断キットは、マラリア原虫の Histidinerich protein-2(HRP-2)か Parasite lactate dehydrogenase(pLDH)のいずれかを検出するタイプに大別されるが、最近、同時に両方を検出するタイプも市販された。そこで、日本の検疫業務やトラベルクリニックで利用される新しいキット、Mal Pf/Pv antigen と Entave Malaria の 2 つについて、ソロモン諸島のマラリア流行地で、原虫密度 100/μl 以下の例を中心に検出限界を求め、感度と特異度を検証した。原虫密度 100/μl 以下の例が、対象の多くを占めるようになっても、特異度は 94.2~99.1%と高かったが、感度は、熱帯熱マラリアで 60~80%、三日熱マラリアで 30%以下となった。また、熱帯熱マラリアについては、原虫密度 50/μl まで検出できたが、三日熱マラリアの検出限界は、両キットとも原虫密度 100/μl 程度にとどまった。[大前比呂思、亀井喜世子（平成帝京大学）]

#### (7) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

原虫抗体を検出する検査診断法については、尿中の熱帯熱マラリア原虫抗体を検出する方法について、陰性化までの期間を検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、過去 3 年間の調査の中で尿中の熱帯熱マラリア原虫 IgG 抗体価が陽性から陰性に転じた 19 例を対象とした。フォローアップの期間間、半年ごとに行われた顕微鏡による血液標本の検査結果の推移とマラリア感染・治療歴の関係について解析し、明らかな再感染がなければ、陰性化した例は 2 年間で 37%、3 年間で 68% となった。[大前比呂思、伊藤誠（愛知医大）、亀井喜世子（平成帝京大学）]

## 2. 蠕虫症診断法・検出法・不活化法の開発

### (1) イムノクロマト法による血清診断キットの開発

ア. ヒロクチ肺吸虫の ES 抗原を用いた免疫クロマトグラフィー法に基づく血清診断キットの開発

本邦で人体感染の原因となる肺吸虫種（ウェステルマンあるいは宮崎）から調製した ES 抗原を用い、免疫クロマトグラフィー法に基づく血清診断キットを作製して検討したところ、診断のツールとして極めて有用であることが確認された。そこで、肺吸虫症例が続発するイン

ドでの使用を視野に入れ、現地での原因種（ヒロクチ肺吸虫）から ES 抗原を調製、診断キットを作製して性能を評価した。その結果、喀痰内虫卵の分子同定から原因種がヒロクチ肺吸虫と確定された症例は、いずれも強い反応を示し、確実に診断されることが明らかとなった。一方で、異種のウェステルマン肺吸虫抗原を用いたキットでは、反応強度が弱まる例があった。患者の原因種を抗原として作製したキットを用いることが、正確な結果を得る為には重要と考えられた。[杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩, 小林行治・小林 薫 (アドテック株式会社), シャンティクマール・シン (シッキム医科大学・インド) ]

イ. レコンビナント抗原を用いたトキソカラ症の迅速血清診断キットの開発

イヌ・ネコなどのペットから、あるいは牛レバーの生食によって感染するトキソカラ症の血清検査はその診断根拠を与えることから重要な tool である。そのキットの臨床応用を前提に、健常人血清とトキソカラ症患者血清に対する特異性、非特異性の出現頻度をさらに評価した。その結果、ELISA では問題にはならなかったが、イムノクロマトでは、抗原に用いたレコンビナント抗原のベクター由来のタンパク質部分が非特異的反応を示す場合があることが判明した。現在、このベクター由来タンパク質の特異的吸収剤の検討を行った結果、非特異的反応が消失した。[山崎 浩・武藤麻紀, 小林行治・小林 薫 (アドテック株式会社) ]

ウ. マンソン孤虫症の血清診断キット作成

マンソン裂頭条虫の幼虫（プレロセルコイド）がヒトに寄生することによって惹起されるマンソン孤虫症は血清抗体価が著明に増加することから、抗体検出がその診断に有効である。そこで、前述のトキソカラ症同様、イムノクロマトキットの試作を行った。まず、種々の生化学的手法によって分離精製された3種類の抗原（PBS抽出抗原、パラミオシン、とシステインプロテアーゼ CP）を用いて種特異性を検討したところ、PBS抽出抗原とパラミオシンは非特異的反応が多く、一方、システインプロテアーゼ（CP）抗原は反応性、特異性とも優れていることが判明した。そこで、CP 抗原を用いたキットを試作し、現在、様々な寄生蠕虫症患者血清に対する評価を

継続中である。[山崎 浩, 武藤麻紀, 小林行治・小林 薫 (アドテック株式会社), 中村 健 (北里大学・医) ]

(2) アニサキス症原因虫の分子鑑別に資する新規プライマーの設計と応用

ア. 新規プライマーの設計

長期のホルマリン固定など、保存状態が芳しくない人体症例由来のアニサキス虫体を分子鑑別するために、各種に共通した配列を持ち、210 bp から 260 bp 程度の短い領域を増幅させる新規のプライマーペアを設計した。このプライマーペアの性能について、人体寄生の主要病原種である *A. simplex sensu stricto*、およびこれの同胞種である *A. pegreffii*、また、これらとは幼虫期の形態鑑別が不可能な *A. typica* を用いて評価した。報告例数は少ないが、人体症例の原因となる *A. physeteris* も検討の対象とした。その結果、上述の4種の虫体より調製した DNA からは、いずれも予想サイズ・予想配列の PCR 産物が増幅された。今回作製したプライマーペアは、人体寄生性アニサキスを種鑑別する時の有用なツールになることが確認された。[杉山 広, 梅原梓里, 川上 泰 (麻布大) ]

イ. 臨床材料への適用の可能性検討

アニサキス虫体を分子鑑別するために新たに設計・作製したプライマーペアが、臨床材料に認めるアニサキス虫体の種鑑別に活用できるかを調べた。この検討には、絞扼性イレウス患者の切除回腸・病理組織標本に認めたアニサキス虫体、および食中毒患者の胃から摘出されたアニサキス虫体(何れもホルマリン固定)を対象とした。検討の結果、まずユニバーサルなプライマーペア（NC5 および NC2）で PCR し、次に今回作製したプライマーペアで nested PCR することで PCR 産物が得られることが分かった。この nested PCR の産物の塩基配列を解読したところ、症例の原因種は共に *A. simplex sensu stricto* であることが確認された。[杉山 広, 梅原梓里, 川上 泰 (麻布大) ]

(3) エキノコックス症の遺伝子診断の標準化に関する研究

中国西部はアジア地域のみならず世界的に見ても有数

のエキノコックス症流行地であり、原因種も既知の単包条虫および多包条虫の2種に加え、新種の *Echinoococcus shiquicus* が報告されている。これらは形態学的には正確な鑑別が困難であるため、流行地では病原体の種ごとに異なる予防対策や適切な治療法の選択を妨げ、またわが国では輸入症例への対応を難しくしている。そこで今回、簡便な遺伝子鑑別法を確立することを目的として、最適な標的領域の選別を行ってマルチプレックス PCR 法による遺伝子検査システムの開発を試みた。[森嶋康之, 山崎 浩, 杉山 広, 川中正憲, 湯 林華(中国 CDC 寄生虫病予防制御所)、王 虎 (青海省 CDC) ]

#### (4) 宿主サワガニの冷凍による肺吸虫感染リスクの除去

市販の食用サワガニを原因に、肺吸虫に感染する事例の報告が続いている。肺吸虫陽性のサワガニを冷凍すれば、非加熱で摂食しても肺吸虫の感染は予防されると予想されたので、その条件を検討した。条件検討に当たっては、昨年度の加熱実験を参照し、冷凍サワガニから分離したウェステルマン肺吸虫(2倍体型)メタセルカリアの形態を精査すると共に、マウスへの感染試験を実施した。その結果、サワガニを-18℃で100分間冷凍すれば、その体内のメタセルカリアは変性し、感染能力を消失することが明らかとなった。より短い50分間処理では、変性してもマウスへの感染性が認められ、予防効果は不十分であった。更に低い温度では、より短時間での冷凍で感染予防が可能と考えられたので、検討を進める予定にしている。また、宮崎肺吸虫陽性サワガニを用いての検討も計画している。[杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩, 柴田勝優, 川上 泰 (麻布大) ]

#### (5) 病理組織標本を用いた寄生虫の分子同定

##### ア. 免疫組織化学的染色による線虫の同定

国内外の医療機関から寄生虫の依頼検査の中には、ホルマリン固定標本やパラフィン包埋標本が含まれているが、ホルマリン固定はDNAを分解するために、DNAの増幅は困難である。しかし、DNAの抽出法やPCR条件を工夫することによって、その寄生虫の種の鑑別が可能になってきた。その実例として、平成22年度には、特筆すべき症例として、国内では5,6例目と考えられ

る肝毛細虫(*Capillaria hepatica*)による人体寄生例を確定診断することができた。その他、アメリカ鉤虫(*Necator americanus*)やタヌキ回虫(*Toxocara tanuki*)のホルマリン固定された虫卵も遺伝子解析によって同定に至るなど、検査依頼検体を活用し、遺伝子鑑別法を網羅的に確立している。[山崎 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之]

##### イ. 免疫組織化学的染色によるブタ・肝エキノコックス症の評価に関する検討

ブタはエキノコックス流行地である北海道の監視動物の1つとして食肉衛生的見地から検査されている。本研究では、1980年代の食肉衛生検査でエキノコックス感染と疑われた12例のブタの肝壊死病変組織パラフィン切片を用いてHE/PAS染色鏡検により7例に病理組織学的マーカーであるクチクラ(Cu)を確認した。けれども、これらHE/PAS陽性7例の組織標本にはCu内に原頭節の形成は勿論のことCu内層(胚層)の存在を確認できなかった。そこで、免疫組織化学染色(IHC:*Echinococcus multilocularis* 原頭節抽出物に対する家兔特異抗体使用)によるCu内層(胚層)の検出の有無を検索したところ、PAS陽性組織標本7例のうち、IHCで3例がCu内層+(陽性)、2例が±となった。これら5例は何れもIHC陰性の3例に比較しCuの発育が弱く、感染のより早期のものと示唆された。本結果は食肉衛生検査におけるエキノコックスの興味深い免疫組織化学的知見と考えられ更なる調査研究が期待された。なお、特異抗体の捕捉はbiotin標識抗ウサギIgG抗体/streptavidin-peroxidase系で行なわれ、反応時間は一次抗体を含めそれぞれ室温10分であった。抗原の賦活化にはトリプシンが用いられた。[島田陽一(北海道)、古屋宏二、川中正憲、杉山 広、森嶋康之、山崎 浩]

## II. 疫学・型別・分子疫学的研究

### 1. 原虫症の分子疫学的研究・調査

#### (1) アカントアメーバ性角膜炎全国サーベイランスと分子疫学的研究

平成20-22年度にわたるアカントアメーバ性角膜炎の全国調査結果をまとめ、近年のアメーバ性角膜炎増加の要因を分子疫学的に解析した。角膜分離27株、コ

ンタクトレンズ保存液 15 株に関して 18SrRNA 遺伝子配列に基づくタイピングを行い、起因アメーバのほとんどがこれまで角膜炎に密接に関連することが知られる T4 という遺伝子タイプであること、新たな T タイプは確認されなかったこと、また T4 の中のいくつかのシーケンスタイプのアメーバが全国的に分布する傾向が示された。アメーバ角膜炎増加の微生物学的要因としては、これまで環境中に生息しているアメーバの感染リスクが増加した可能性が想定された。[八木田健司、村上裕子、井上幸次（鳥取大）]

#### (2) アメーバ内共生（寄生）微生物に関する研究

自由生活性アメーバに共生する微生物のヒトへの健康影響に関する研究を進めている。ギムザ染色で細胞内の共生微生物（共生体）が確認された環境分離の共生アメーバの DNA アーカイブ標本を材料として、遺伝子解析による共生体の同定を行った。浴槽水試料ならびにハウスダスト試料からの共生アメーバでは、ヒトの呼吸器疾患との関連性が知られる *Parachlamydia* 科を含むクラミジアのほか、桿菌様の共生体、細胞内寄生性が知られるリケッチア属の共生体がみられた。ほとんどの共生体との関係において、共生アメーバは安定した共生関係を維持しているものと考えられ、アメーバに対する病原性は極めて低いものと想定された。[八木田健司、村上裕子]

#### (3) PCR による馬肉からの住肉孢子虫ザルコシスチスの検出

近年問題となっている生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例において、馬肉の生食（馬刺し）、さらには馬肉中に寄生するザルコシスチス *Sarcocystis* の本症との関連性が議論されている。馬肉寄生ザルコシスチスの特定を目的に 18SrRNA 遺伝子を用いた定性的 PCR 検査を行い、有症事例残品のみならず市販馬肉製品からも原虫が検出され、それらは遺伝的に同一であり、ヒト感染性の *S. hominis* ならびに *S. suihominis* とは異なること、ウマを宿主とする *S. neurona* と異なることが示された。BLAST では野生動物のシカ類から検出されたものの配列と最も相同性が高かった。ウマを宿主とする *S. fayeri* ならびに *S. bertrami* は配列情報がないためその相同性は不明であった。従来ウマを宿主とするザルコシ

スチスによる健康被害は知られておらず、今回検出されたザルコシスチスに関する病原性が大きな課題となる。[八木田健司、村上裕子、鎌田洋一（国立医薬品食品衛生研究所）、小西良子（同）]

#### (4) 馬肉中のザルコシスチスの定量 PCR 法開発

病因物質不明有症事例で馬肉より検出されるザルコシスチスに関し、その定量 PCR 系を考案した。ケミストリには SYBR Green を用い、Power SYBR Green PCR master Mix (ABI) を用いて PCR 試料を調整した。定性 PCR の 18SrRNA 遺伝子解析に基づく塩基配列情報より馬肉ザルコシスチス特異的プライマーを設計し、定性 PCR 産物をスタンダードとして検量線を作成した。馬肉検体はミンチ状に前処理し、一定量を TE バッファーで懸濁、その上清を市販キットで精製し DNA 試料を作成した。定量検出限界は  $1.7 \times 10^3$  コピー/g 肉重量と算出され、有症事例残品に関しては  $1.2 - 6.6 \times 10^6$  コピー/g の DNA 量が検出された。[八木田健司、村上裕子]

#### (5) 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究（微生物分科会）

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に依存した微生物対策の見直しが求められている。当該分科会では研究分担者、協力者との研究協力により、耐塩素性病原微生物に関する研究と併せて、水道に関連する細菌・ウイルスの研究についての取りまとめを行っている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌測定が開始され、その指標性の検討が求められている。全国 2 年分の測定値の比較で、測定地点の多くは安定した測定値が得られていたが、一部に変動や高い測定値が存在し、その理由としては給水栓の汚染が影響しているのではないかと推測された。高度浄水処理過程における従属栄養細菌数は、オゾン処理で減少したものが、生物活性炭処理により増加し、後段の消毒、砂ろ過で減少した。浄水と給水栓水では、検出される菌の比率が異なっていた。ウイルス汚染への対応として浄水処理の有効性の検証として、低い Ct 値での塩素消毒を正確に評価するため、ごく短い接触時間での消毒効果を検証するための処理装置

を開発した。大腸菌を用いた性能試験で接触時間 0.5 秒の消毒を確実に評価することができたことから、ウイルス消毒実験への応用が期待された。クリプトスポリジウム等、耐塩素性病原微生物関連の研究では、試料水の新規濃縮方法としての粉体ろ過法、並びに遺伝子検出法の実用性を検証し、現行試験法への追加を目指した。[泉山信司、秋葉道宏（国立保健医療科学院水道工学部）、片山浩之（東京大学大学院工学研究科）、松下 拓、松井佳彦（北海道大学大学院工学研究科）]

#### (6) マラリア原虫サルファドキシシン耐性遺伝子 dhps の遺伝的多型の解析

サルファドキシシンはピリメサミンとの合剤として世界中で使用されてきた。これまでピリメサミン耐性に寄与する dhfr S108N 変異は 1990 年代以降にアフリカで耐性が急速に広まったことをアーカイブ標本を用いて明らかにしてきた。国内外での研究の動向では dhfr 耐性株は東南アジア、南アメリカの限られた場所で発生し、東南アジアの耐性株がアフリカに移入したことが報告されている。一方で、昨年からは dhps は東アジアでもアフリカでも耐性に寄与する K540E 変異は多起源であることが報告された。そこで、アーカイブサンプルをもとに dhps K540E 変異を検出したところ、dhfr が野性型のサンプルで dhps K540E 変異を検出した。このことはピリメサミンの dhfr 変異が広まる前よりも前に、サルファドキシシンの dhps 変異がアフリカに存在していたことをしめす。現在、dhps の他の変異部位の解析も進めている。

[中野由美子、中曾根英子、美田敏宏（東京女子医大）、田邊和裕（大阪大）]

#### (7) ガーナ国のマラリア治療薬使用状況調査

アフリカに於ける薬剤耐性マラリア拡散阻止構想の一環として、chloroquine 使用が禁止され、ACT(Artemisinin-based Combination Therapy)が実行されてから 5 年経過したアフリカ ガーナ国の 11 地区でマラリア治療薬使用状況を調査した。1085 人の感染者および医療従事者の協力を得て調査した結果、artemether-lumefantrine(AL)が 59.2%で最も多く処方されて使用されていた。続いて dihydroartemisinin,sulfadoxine-pyrimethamine(SP),artes

unate-amodiaquine(AA)などが使用されていた。Artesunate の monotherapy や chloroquine の継続使用等の問題点が浮き彫りになった。[Kwansa-Bentum,B.,Ay,I.(ガーナ大、野口研)、朝日博子、太田伸生（東京医科歯科大）]

#### (8) アフリカ ガーナ国のマラリア薬剤耐性と artemisinin の薬理作用に関する研究

マラリア治療のファーストライン治療薬とされる artemisinin の標的として SERCA-type PfATPase6 が推測とされることから、この原因因子の polymorphisms と薬剤感受性の関連に焦点をあて、ガーナ国で分離された isolates を用いて調べた。加えて従来の主要な治療薬に対する耐性状況を pfctp,pfmdr,および pfcr1 の耐性関連配列決定と in vitro 試験法を用いて調べた。SERCA-type PfATPase6 には広範な point mutation が見いだされたが、artesunate に対する薬剤感受性との関連はなかった。耐性は quinine (19.4%),amodiaquine (29.0%),chloroquine (51.6%) にみられた。[Kwansa-Bentum,B.,Ay,I.(ガーナ大、野口研)、朝日博子、太田伸生（東京医科歯科大）]

## 2. 蠕虫症の分子疫学的研究・調査

### (1). アニサキス症の発生実態と原因の解析

ア. 本邦における寄生蠕虫症の発生状況：レセプトデータを用いた解析の試み

株式会社日本医療データセンターが 2009 年 1 月から 12 月の 1 年間に集積した約 75 万人のレセプトデータを対象に、標準傷病名 (ICD-10 コード) に具体的な寄生蠕虫の種名を含むレセプトを抽出した。その結果、271 件のデータが抽出された。特に蟯虫症 (228 件) とアニサキス症 (32 件) は件数が二桁を越えた。そこで全国の人口 (2009 年：約 1 億 2800 万人) に基づく拡大推計を行ったところ、年間の患者数は各々約 38,500 名と約 5,100 名と算出された。一方で、エキノコックス症、有鉤条虫症、裂頭条虫症、回虫症、鞭虫症、広東住血線虫症でレセプト請求された症例も抽出された。しかしながら、これらの請求はいずれも 4 件以下に留まり、単純な拡大推計では正確な患者数を把握するのは困難と考えられた。[杉山 広、森嶋康之、窪田邦宏、春日文子（国立衛研）、木村真也（日本医療データセンター）]

山 広, 森嶋康之, 川中正憲]

## イ. ゴマサバに寄生するアニサキス亜科線虫

アニサキス症の感染源として重要なマサバ *Scomber japonicus* の近縁種として、ゴマサバ *S. australasicus* が知られる。本種は、より高温を好み、日本近海では夏季の漁獲量が多いが、アニサキス亜科線虫の寄生状況については、十分に検索されていない。そこで、神奈川県産のマサバ（4尾）およびゴマサバ（7尾）を対象にして調べた。

その結果、魚には総てアニサキス亜科線虫が寄生していた。虫体の検出数は、合計 66 匹（マサバ）および 55 匹（ゴマサバ）であった。検出虫体を分子同定したところ、魚種を問わず大部分が人体寄生の主要病原虫である *Anisakis simplex*（65 匹および 53 匹、以下 As）であった。*A. pegreffii*（以下 Ap）の寄生は認められなかった。なお少数の虫体は hybrid genotype（As と Ap の配列を共有する遺伝子型、1 匹および 2 匹）と同定された。両魚種に寄生するアニサキス亜科線虫の種類は良く一致し、従ってゴマサバもアニサキス症の感染源として危険であることが明らかとなった。[杉山 広, 武藤麻紀, 柴田勝優, 吉田大志, 平 健介（麻布大）]

## (2). アジア条虫症の発生実態

平成 22 年度 6 月から平成 23 年 2 月にかけて、関東地方の 1 都 5 県で、わが国には分布しないと考えられていたアジア条虫 (*Taenia asiatica*) による感染事例 17 例が発生した。アジア条虫は韓国・中国や東南アジアに分布する条虫で、その形態は無鉤条虫に似るが、中間宿主を豚とする条虫である。ヒトへの感染は、その幼虫（＝囊虫）が寄生した豚レバーの生食による。今回発生したアジア条虫症患者のほとんどは海外渡航歴がなく、関東地方の飲食店で豚レバーを摂取していたことから、国内感染事例と考えられた。虫体の鑑別診断は DNA 検査が最も信頼性があることから、ミトコンドリアゲノムでコードされる *cox1* 遺伝子に加え、核 DNA の *elongation factor 1- $\alpha$*  遺伝子、および *ezrin-radixin-moesin* 遺伝子の塩基配列からアジア条虫と同定した。さらに、現在、中間宿主である豚における感染実態が不明であるために、関東地方の食肉衛生検査所にアジア条虫幼虫の検査体制の強化を要請し、監視を行っている。[山崎 浩, 武藤麻紀, 杉

## (3). 野生アライグマのアライグマ回虫寄生の監視

ヒトで重篤な神経障害を引き起こすアライグマ回虫による幼虫移行症の発生を予防する為に、実施可能な地域での野生アライグマの寄生虫保有状況の調査を継続しているが、現在のところアライグマ回虫は検出されていない。埼玉県においては、アライグマの増加が近年非常に目立つ状況になっている。野生アライグマの捕獲数で見ると、平成 16 年度は 31 頭であったのに平成 19 年度は 935 頭を数え、20 年度は 1,346 頭、21 年度は 1,756 頭、そして今年度は 2358 頭になった。今年度は主として埼玉県中部地域で捕獲されたアライグマ 390 頭から直腸便を採取し検査に供した。兵庫県においてもアライグマの増加は激しい。捕獲数は平成 16 年には 94 頭であったものが平成 18 年は 2,059 頭、平成 19 年には 2,612 頭にもなっている。本年度は 85 頭の凍結腸管材料について消化管寄生虫の精査を実施した。同様に島根県では、75 頭の検査を実施した。九州地方では、既に 3 箇所の動物園のアライグマからアライグマ回虫が検出されているが、野生アライグマの寄生虫検査に関してはまだ少数に止まっている。今年度は、長崎県から 20 頭、佐賀県から 45 頭の凍結腸管材料について検査を実施したが、アライグマ回虫卵は検出されなかった。[川中正憲, 山本徳栄（埼玉衛研）, 佐藤 宏（山口大農）]

## (4). エキノコックス症の国内流行地域拡大防止対策に関する調査研究

## ア. 豚肝多包虫を検出する為の「白色結節病理アトラス」の作成と配布

青森県におけるエキノコックス（多包虫）の浸淫状況を調査する目的で、平成 17 年度から 20 年度まで十和田食肉衛生検査所管内のと畜場に搬入された約 360 万頭の豚から、白色結節が認められた肝臓を対象に精査したところ、北海道産豚（5,291 頭）のうち 6 頭にエキノコックスの感染が確認されたことは既に報告した。更にこの期間に当食検で検出された白色結節 109 例について詳細に病理組織学的な検討を行った結果、少なくとも 14 のカテゴリーに分類される事が明らかとなった。豚はエキノコックス症にとって公衆衛生上「歩哨動物」として



の役割がある。そこでこれらの肝臓病変に関する肉眼・顕微鏡所見をカラーアトラスとして印刷物に纏め、全国の食肉衛生検査所と東日本の衛生研究所及び家畜保健衛生所その他一部の研究者宛に配布した。今後、特に北海道外における活用が期待される。[新井山潤一郎（青森県十和田食検）、松井高峯（帯広畜大）、川中正憲]

イ．糞便内抗原検出キットを用いた捕獲犬のエキノコックス感染監視

従来実施されていたのは、放浪犬を対象とした糞便の虫卵検査であるが、多包条虫に関しては検出感度が低い事が知られている。そこで、今年度は、青森県動物愛護センターで、近年、商業的に入手が可能となった糞便内抗原検出キット（「エキット」インビボサイエンス KK）を用いた検査を実施した。検査対象は、愛護センターに収容された感染の可能性の高い中・大型犬に限定し、青森県内での捕獲地が記録されているものとした。結果としては、平成 22 年 6 月から 23 年 2 月までに 70 頭の検査が実施されたが、全例が陰性であった。キットでの検査に当たっては、検査対象犬の腸管を冷凍保存することにより、キットで陽性となった場合に腸内容を剖検により精査出来る体制を整えた。今後とも継続的に実施することが必要である。[藤本道志（青森県動物愛護センター）、森嶋康之、川中正憲]

ウ．各地のと畜場に搬入された馬の多包虫感染状況の調査

馬の多包虫症に関しては、これまで北海道以外での報告例は皆無であったが、山形県内陸食検でと畜された軽種馬から高率（約 20%）にその感染が確認された。この成績は、当該食検において従来、馬の肝臓の肝砂粒症又は白色結節として廃棄処理されていた病変組織を精査した結果、得られたものであった。豚や馬での多包条虫の発育は、初期段階に止まり生殖上不妊であり、多包条虫の生活環の成立に役割を持たないとされている。馬は、その多くが短い生存期間でと畜処理される豚と異なり、多包虫感染後の生存期間が比較的長い。その為に、馬が多包条虫の中間宿主としては一般に不相当であるとしても感染期間と個体の条件によっては原頭節形成が起こる可能性を全否定する根拠は現在のところ得られていない。

即ち、馬においては、世界的にも多包虫感染事例が我国以外には無い為に、その実態が十分に解明されていない。そこで、と畜場に搬入された馬の肝臓病変の精査を通じて、馬の多包虫感染状況を明らかにする事が必要となった。現在、青森県十和田食検、山形県内陸食検、長野県上田食検、山梨県食検、福岡県食検、熊本市食検などの協力を得て調査を実施している。[川中正憲、山崎 浩、杉山 広、森嶋 康之]

(5)．住血吸虫症の疫学

ア．2000 年代に発見されたフィリピンの日本住血吸虫症有病地の分析

フィリピンで新しく報告された日本住血吸虫症有病地、Gonzaga, CAGAYAN 州（2002 年）と Calatrava, NEGROS 州（2005 年）で実施した腹部超音波検査と血清検査の結果を照合して解析した。腹部超音波検査で日本住血吸虫症特有の進んだ肝線維化を指摘されながらも、日本住血吸虫卵抗原を用いた ELISA では陰性となった例が、両地域でみられたが、このような例は、比較的浸淫地ではあるものの、長期間にわたり日本住血吸虫症有病地であった地域でみられることが多い。また、ELISA 検査では、陽性率が 20 歳程度まで年齢とともに増加していく傾向が、CAGAYAN 州と SORSOGON 州でみられた。ベクターの生息という観点でも、新たに確認されたフィリピンの 2 つの地域の気候・環境条件は、日本住血吸虫の媒介種である *Oncomelania quadrasi* が生息できる条件にあう。新しく確認された住血吸虫症の浸淫地が、従来からの有病地の発見なのか全く新しい有病地の出現なのかで、対策の方向性は異なる。免疫血清検査と超音波検査を組み合わせることで、個人レベルでの診断や病態把握にとどまらず、新しく報告された日本住血吸虫症の有病地の現状を、的確に評価できることがわかった。

[大前比呂思、桐木雅史（獨協医大）、千種雄一（獨協医大）、Remingo Olveda ( RITM, フィリピン) ]

イ．メコン住血吸虫症の血清疫学

メコン住血吸虫症の免疫血清診断で、従来の虫卵粗抗原を使った ELISA よりも、過ヨウ素酸ナトリウムで処理した虫卵抗原を用いる SMP-ELISA の方が、偽陽性例も少なく有用であることが、フィールドでも検証された。

そして、実際に村落ごとの SMP-ELISA 陽性率をみると、陽性率がそれぞれ 26.8%, 50.8% と高い水準にあった村落に 500m 程度で隣接する村落群で、陽性率は 8% 程度にとどまった。メコン住血吸虫の感染リスクは、隣接する村でもかなり異なり、流行も局所的に起こることが、SMP-ELISA を利用した調査でより明確になった。また、ラオス旅行中の外国人旅行者の感染例の検査結果からは、従来メコン住血吸虫症の報告がない Van Vieng 地域での罹患が強く疑われた例が見いだされた。今後は、同地域を中心に、媒介員の調査や糞便検査と並んで、広い範囲で住民の血清疫学調査を行うべきと判断された。

[ 大前比呂思、桐木雅史 (獨協医大)、千種雄一 (獨協医大)、Duon Socheat ( CMPV, カンボジア ) ]

### III. 分類・同定・臨床

#### 1. 脳ミクロスポリジオーシスのリスザルの一症例

*Encephalitozoon cuniculi* は Microsporidia に属し、ITS 遺伝子のタイピングから三つの型に分類される。ITS 遺伝子型は動物種と密接な関係があるとされており、リスザルからは strain III 型の亜型が検出されている。本研究では微生物検査、遺伝子検査から脳ミクロスポリジオーシスと判定した一症例について、組織学的な面から詳細な研究を行い、偽嚢胞の発現部位としてニューロピルの他にニューロンが細胞レベルでの寄生の場であることを明らかにした。本症例は、弱齢リスザルにおける *E. cuniculi* strain III 型感染による脳ミクロスポリジオーシスの代表例と考えられ、また、宿主反応がほとんど認められないなど潜在感染の組織学的特徴を示す貴重な症例と思われる。[古屋宏二、杉山 広、大田真莉子 (麻布大)、中村進一 (麻布大)、宇根有美 (麻布大)、佐々木啓 (三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所) ]

#### 2. タイ南部で新たに発見されたバンコック肺吸虫

タイ南部・スラータニ県に分布する淡水産のカニ *Phricotelphusa aedes* (Kemp, 1923) には、2 型のウェステルマン肺吸虫メタセルカリアが寄生していることを既に報告した。このカニの検索を継続したところ、別種の肺吸虫メタセルカリアが見出された。このメタセルカリアは球形を呈し、直径は平均 430  $\mu$ m であった。フェレ

ットに感染させて回収した成虫は、紡錘形を呈し、体長は 13.4 mm、体幅は 6.3 mm であった。卵巣は腹吸盤の前方片側に位置し、サンゴ状を呈してやや複雑に分岐し、腹吸盤の後方には葉が 5-6 本に簡単に分岐する精巣を左右に 1 対認めた。皮棘は群生であった。以上の形態から、この肺吸虫をバンコック肺吸虫 *Paragonimus bangkokensis* と同定した。メタセルカリアと成虫を出発材料に得られたリボソーム DNA・ITS2 領域の配列からも形態同定の結果が支持された。[杉山 広、森嶋康之、武田正倫 (帝京科学大学)、アチャリヤ・ラングシルジ (タイ・シーナカリンウィロート大学) ]

#### 3. 裂頭条虫に関する分類学的研究

(1) チリ産ギンザケに寄生する裂頭条虫属 (*Diphyllbothrium*) 幼虫の cob 遺伝子のハプロタイプ解析

南米チリの南部、プエルト・モン近郊のジャンキウエ湖で捕獲したギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*) の胃や筋肉から採取された裂頭条虫の幼虫 (プレロセルコイド) 60 個体はその形態と *cox1* 遺伝子解析から、2 個体は広節裂頭条虫 (*Diphyllbothrium latum*) と同定された。しかし、58 個体については *cox1* 遺伝子の塩基配列の相同性から、暫定的に *Diphyllbothrium dendriticum* と同定された。この *D. dendriticum* と同定した個体については、ミトコンドリア DNA のシトクローム b 遺伝子 (cob) の解析も行った。その結果、*D. dendriticum* については少なくとも 11 個の異なる cob 遺伝子のハプロタイプが検出された。前年度に解析した *cox1* 遺伝子と今年度実施した cob 遺伝子とあわせて分子系統解析を行った結果、暫定的に *D. dendriticum* と同定された種は、旧北区に分布するいわゆる *D. dendriticum* とは異なる clade を形成し、新種の可能性も示唆された。[山崎 浩、武藤麻紀]

(2) *Diphyllbothrium ursi* (ヒグマ裂頭条虫) のミトコンドリア DNA 解析に基づく分類学的再検討

裂頭条虫属 (*Diphyllbothrium*) に属する条虫は形態学的に類似する種類が多く、分類上の位置が未だ確定していない種が多く、正確な種数も確定していないことから、DNA 解析を含めた分類学的再検討が必要な寄生虫である。その中には、1954 年、アラスカ、コディアック島

のヒグマとベニザケから発見され、ヒグマ裂頭条虫 (*Diphyllobothrium ursi*)として新種記載された種も 1987 年には *D. ursi* は *Diphyllobothrium dendriticum* のシノニムとされた。そこで、*D. ursi* は *D. dendriticum* のシノニムであるか否かを明らかにする目的で、1954 年の新種記載に用いられた *D. ursi* の完模式標本(holotype)を用いて、ミトコンドリア DNA の *cox1* 遺伝子の解析を行った。その結果、シノニムとされていた *D. dendriticum* に最も近縁ではあったが、明らかに *D. dendriticum* とは異なる clade を形成し、日本海裂頭条虫や広節裂頭条虫とも異なり、*D. ursi* の種としての独立性が確認された。[山崎 浩, 武藤麻紀, 有菌直樹 (京都府医大), R. L. Rausch (ワシントン大)]

#### IV. 生理・生化学・分子生物学

##### 1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

##### (1) 自由生活性アメーバの病原機構・生物学にかかる研究

アカントアメーバ性角膜炎の病理として、角膜実質層内における炎症および潰瘍形成の過程は重要である。前年度確立した実質細胞の CPE を定量的に解析するアッセイ系を用いて T4 タイプのアメーバ分離株の CPE を比較した。その結果シーケンズが異なる株間で CPE の差は顕著ではなく、臨床面での重症度との関連も明らかではなかった。CPE の明らかな実質細胞試料を用いて TUNEL 染色、Annexin V 染色を行った結果では、CPE にアポトーシスが関連することが強く示唆された。[高岡 紀子 (東京女子医大東医療センター)、八木田健司]

##### (2) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

##### ア. 比較ゲノミクスを用いた新規赤痢アメーバ病原関連遺伝子の同定

病原性に違いのある赤痢アメーバ国内臨床分離株、KU27 (非病原性)、KU50 (腸アメーバ症由来) のゲノムを次世代シーケンサーで解析し、非病原性株で特異的に欠損しているゲノム領域を明らかにした。まず各株のゲノムを Illumina 社のゲノムアナライザーで解読しそれぞれ 21,514,383、19,525,688 本のリードを得た。これを既に公開されている HM1 株 (腸アメーバ症由来、メ

キシコ) の ORF データに対してマップし、KU27 由来のリードが全くマップされなかったが KU50 ではマップされている ORF を抽出し 34 の候補 ORF に絞り込んだ。続いて KU27、KU50 のゲノム DNA から PCR を行い 34 の ORF の有無を認したところ、唯一 EHI\_176590 が KU27 で増幅されず KU50 で増幅されることが確認された。EHI\_176590 は AIG1 family protein をコードしており、これは哺乳動物で免疫細胞の生死にかかわるシグナル伝達に働いていることが知られている。よって、赤痢アメーバでも何らかのシグナル伝達に関与することが予想される。今後この AIG1 ファミリータンパク質の機能解析を行い病原性への関連を明らかにする。[津久井久美子、関塚剛史 (病原体ゲノム解析センター)、今田美穂子、黒田誠 (病原体ゲノム解析センター)、野崎智義]

##### イ. 赤痢アメーバ薬剤耐性に関与する遺伝子のトランスクリプトーム解析

現在抗赤痢アメーバ薬としてメタロニダゾールが唯一の薬として使用されているが、特に発展途上国での濫用があり、薬剤耐性株の出現が危惧される。そこで実験室で作成したメタロニダゾール耐性株を用い、トランスクリプトーム解析から、薬剤耐性に関与する遺伝子の特定を試みた。耐性株と親株で、有意に 3 倍以上変動があった遺伝子を抽出したところ、発現が上昇した遺伝子が 51、下降した遺伝子が 31 存在した。最も大きな変動があった遺伝子は EHI\_092110 (hypothetical protein) であり、83.5 倍発現上昇がみられた。これは 56 アミノ酸からなるペプチドであり、既知のドメインは特定できず機能不明であった。他に発現上昇が見られた遺伝子である dUTP nucleotidylhydrolase (363.m00051, EHI\_062990, EHI\_034810) は DNA 修復を行うことが知られている。メタロニダゾールは DNA ダメージを起こすと報告されていることから、ダメージの回避の分子機構が働いていると考えられた。最も発現が下降した遺伝子は EHI\_127670 であり 15 倍発現が減少していた。これは 111 アミノ酸をコードする遺伝子であるが、機能不明の遺伝子であった。次に発現減少が大きかった遺伝子は Glutamate synthase beta subunit (EHI\_045340) であり、NADPH dependent oxydoreductase (EhNO2) と報告された遺伝子である (Jeelani et al., 2010)。この酵素はメタロ

ニダゾールを活性化することが示されていることから、発現抑制によりメタロニダゾールの活性化を抑制したと考えられる。メタロニダゾール耐性が報告されている腫トリコモナス原虫や腸鞭毛虫ではメタロニダゾールの活性化を行う Pyruvate Ferredoxin Oxidoreductase(PFOR)の発現低下や活性低下が報告されているが、今回 PFORの発現変化は見いだせなかった。よって、赤痢アメーバでは EhNO2 がメタロニダゾールの活性化に中心的役割を持つことが示唆された。[Gil Penuliar, 津久井久美子、野崎智義]

ウ. 赤痢アメーバ膜輸送機構の解明

i. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送機構の解明

我々はこれまでに赤痢アメーバの重要な病原因子であるシステインプロテアーゼ(CP)の輸送と成熟化に関するレセプター分子：cysteine protease binding protein family 1: CPBF1 を同定した。ゲノム情報から他に 10 の CPBF1 に相同性の高い遺伝子が存在することから機能の類似するファミリー分子として存在することが予想された。そこで以前ファゴソームプロテオームにより食食胞上に存在することが示唆されていた CPBF6, CPBF8 のリガンドを同定した。CPBF6, CPBF8、それぞれのカルボキシル末端に HA タグを付した融合タンパク質を赤痢アメーバに発現させ、抗 HA 抗体を用いた免疫沈降により共沈してきた CPBF 結合分子を同定した。それぞれの株に特異的と思われるバンドを切り出し、LC-MS/MS で解析を行った結果 CPBF6 は  $\alpha$ -amylase, glucoside hydrolase と、CPBF8 が  $\beta$ -hexoaminidase, lysozyme と結合することを見いだした。よって CPBF は真核細胞で初めて見出されたリソソーム酵素輸送レセプター分子ファミリーであると考えられる。[古川敦、津久井久美子、坪井久美子、野崎智義]

ii. 赤痢アメーバのシステインプロテアーゼ (CP) 分泌制御

赤痢アメーバの CP 阻害ペプチドとして ICP1 と ICP2 が報告されている。CP 分泌のメカニズムを探るために、両者の ICP の発現抑制株 (gene-silence : gs 株) を作成した。ICP2gs の発現抑制効果は部分的であったが、ICP1gs は一年以上も発現抑制効果のある安定な株を得

た。CP の細胞外への分泌効果を解析したところ、ICP1gs 株では細胞外に分泌される CP の量が増大した。ICP1 は赤痢アメーバの細胞質に局在し、どのようにオルガネラの中に存在する CP の分泌に作用するのかを明らかにするのが今後の課題である。また ICP1gs 株は宿主細胞の細胞死を誘導する活性が高いことも明らかになった。

[中野由美子、Young Ah Lee (韓国)、Myeong Heon Shin (韓国)、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバにおける膜輸送の多様性

i. 赤痢アメーバの Rab7 アイソタイプの機能解析

赤痢アメーバは赤血球やヒトの細胞を食食し、病原性を発揮する。食食は細胞内の小胞輸送によって担われており、Rab GTPase が分子スイッチとして制御している。これまで赤痢アメーバのゲノムには 100 種類以上の Rab が存在し、ヒトの 60 種よりも多様化していることが報告されている。そこで赤痢アメーバにおける Rab の多様化を理解するため、最も大きい 9 つのアイソタイプを形成する Rab7 サブファミリーに機能の違いがあるかを解析した。まず 9 つの Rab7 アイソタイプのうち、定常状態で発現が高い 6 種 (Rab7A/B/D/E/G/H) に特異的な発現抑制株を作製した。その結果、赤血球の食食能と接着効率が Rab7G gene silence 株は有意に効率が上昇していた。一方、ラテックススピーズの食食能は、どの株においても有意な差は得られなかった。よって、赤痢アメーバの Rab7 アイソタイプは食食の際に異なる機能を持ち、Rab7G は赤血球リセプターの細胞表面への提示に関与していることが推測された。

[花館有希(東邦大学)、津久井久美子、渡辺直子(東邦大学)、野崎智義、中野由美子]

iii. 赤痢アメーバに特異的な RabX3 の解析

Rab は分子量約 20kDa の GTPase である。しかし、100 種以上ある赤痢アメーバの Rab の中で RabX3 は C 末端が伸長しており、その C 末端領域には GTP 結合領域の一部分と Rab に特有の switch II 配列が存在していた。RabX3 のホモログは他種生物には存在せず、E. dispar と E. invadens に保存していた。RabX3 の赤痢アメーバにおける機能特殊性を解析するために HA-RabX3 を発現する株を作成したところ、45kDa の位置にバンドを認め

た。現在、RabX3 の結晶解析を進めている。

[中野由美子、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

iv. 赤痢アメーバのシステインプロテアーゼ輸送に関与する Rab11B の機能制御

Rab11B は過剰発現によりシステインプロテアーゼの細胞外への分泌を上昇させることが示されている。

Rab11B のエフェクタータンパク質を同定し、その分泌制御に係る分子機構を明らかにするために、大腸菌組換えタンパク質とのタンパク質相互作用を利用して、赤痢アメーバ祖抽出液中からエフェクタータンパク質を単離した。その結果、Exocyst 複合体を構成する分子が同定された。[Gil Penuliar, 中野由美子、野崎智義]

v. 赤痢アメーバの食食に関与する Rab の網羅的機能解析

赤痢アメーバのファゴソームのプロテオーム解析により同定された Rab タンパク質の食食における役割を機能的に理解することを目的として、gene silence 法を用いて、Rab1, Rab5, Rab7A-E, Rab8, Rab11B, RabX17 網羅的ノックダウン株を作成した。[花館有希、中野由美子、野崎智義]

オ. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の細胞分化の解明

i. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* のトランスフェクション系の確立

人に感染する赤痢アメーバはシスト化の実験系が確立しておらず、シスト化の分子メカニズム解明への障壁となっている。一方爬虫類を宿主とする *Entamoeba invadens* は赤痢アメーバと同じ 4 核のシストを形成し、実験室でシスト化の誘導が可能である。しかし分子生物学的解析に必須である遺伝子導入法が確立していなかった。そこで *E. invadens* 発現ベクターの構築と遺伝子導入法の確立を行った。適当なプロモーターを決定するため、actin, cysteine synthase (CS), protein disulfide isomerase (PDI) の 5' および 3' 非翻訳領域をプロモーターとターミネーターとしたベクターを作成、リポフェクション法により一過性に発現させ、転写活性を *Renilla luciferase* の活性で評価した。その結果 actin と CS のプ

ロモーターで転写活性が確認され、*E. invadens* へ遺伝子導入が可能であることを始めて明らかにした。更に DNA 量、培養時間といった遺伝子導入条件を最適化した。また、G418 耐性遺伝子の導入・発現にも成功し、安定的な transformant 樹立が可能となった。今後この実験系を用い、*E. invadens* シスト化の分子メカニズムの解明を行っていく。[間瀬望、津久井久美子、野崎智義]

ii. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の嚢子化過程の遺伝子発現の解明

嚢子化は赤痢アメーバを始めとするいくつかの病原性原虫の伝播に不可欠な細胞機能である。*Entamoeba* の細胞分化における遺伝子発現制御を理解するために、嚢子化過程の複数点における網羅的遺伝子発現プロファイリングを行った。その結果、複数の myb 転写因子が各過程で独立した転写制御を行っていること、システインプロテアーゼ、Rab、細胞骨格タンパク質、プロテアソーム、嚢子壁タンパク質など多くの遺伝子制御が時間依存的に発現制御される俯瞰図が獲得された。[Aleyla Escueta-de Cadiz, 津久井久美子、野崎智義]

カ. 赤痢アメーバの代謝に関する研究

i. 酸化ストレス応答のメタボローム解析

赤痢アメーバの酸化応答の代謝制御を理解するために、CE-ToFMS を用いた網羅的代謝物プロファイリングを行った。その結果、システインのデノボ合成に関与する考えられていた経路が、S-メチルシステインの合成に関与していること、S-メチルシステインがシステイン飢餓時のシステイン（還元力）の貯蔵、或いはアンチオキシダントとして機能することが明らかにされた。また、システイン飢餓により、フォスフォエタノールアミンやそのリン酸化物、更にフォスファチジルエタノールアミンが蓄積することが初めて示され、今後の生理的意義が必要とされた。更に、バイオマーカーとしての利用が期待された。[Ghulam Jeelani, 佐藤暖, Afzal Husain, 曾我朋義 (慶應大学), 末松誠 (慶應大学), 野崎智義]

ii. 新しい NADPH 依存的酸化還元酵素の機能の解明

トランスクリプトーム解析によりシステイン飢餓と負荷により発現調節を受けることが明らかにされた機能

未知の新規 NADPH 依存的酸化還元酵素の機能を酵素学的に解明した。この酵素(EhNO)は2つのアイソエンザイムで構成され、細胞内のフェレドキシン依存的酸化還元反応、鉄やシステインの還元、メトロニダゾールの還元などに機能することが明らかにされた。更に、遺伝子発現抑制により、酸化ストレスへの耐性とメトロニダゾールへの感受性に変化が生じた。[Jeelani Ghulam, 佐藤暖, Afzal Husain, 曾我朋義(慶應大学), 末松誠(慶應大学), 野崎智義]

#### キ、赤痢アメーバの薬剤感受性・耐性に係る研究

トリフルオロメチオニン耐性の分子機構の解明を行った。トリフルオロメチオニン誘導体はメチオニンガンマリアーゼを標的とした有望な新規抗赤痢アメーバ薬剤である。今後の誘導体化を至適化するとともに、薬剤の導入によって生じる薬剤耐性への準備のために、薬剤耐性の分子機構を明らかにすることは重要である。トリフルオロメチオニンの耐性株はインビボで薬剤濃度を徐々に上昇させることにより獲得された。トランスクリプトーム解析により、野生型株との遺伝子発現プロファイルの変化を調べたところ、メチオニンガンマリアーゼの2種のアイソタイプの発現が選択的に大きく減少していることが確認された。この結果をもとに、メチオニンガンマリアーゼの発現抑制株を作成し、トリフルオロメチオニンに対する感受性を確認したところ、前述のトリフルオロメチオニン耐性株と同様な耐性を示した。以上のことから赤痢アメーバに誘導されるトリフルオロメチオニン耐性はメチオニンガンマリアーゼの発現抑制によることが示された。[Gil Penuliar, 佐藤暖(慶應大学)、野崎智義]

#### (3) トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

##### ア、植物ホルモンジベレリン合成阻害薬によるトキソプラズマの増殖阻害効果

我々は最近、トキソプラズマが植物ホルモンであるアブシジン酸を産生し、自身の増殖や分化の調節に用いていることを明らかにした。また、アピコンプレクス門に属する原虫であるトキソプラズマやマラリア原虫がいくつかの植物ホルモン阻害薬により増殖が阻害されるこ

とを示した。これらの結果はアピコンプレクス門原虫がアブシジン酸以外の植物ホルモンを産生し、増殖の制御に用いている可能性を示唆している。そこで本研究では、植物ホルモンの一種であるジベレリン生合成阻害剤がトキソプラズマに与える影響について検討をおこなった。

トキソプラズマのタキゾイトをジベレリン生合成阻害剤存在下で培養したところ、その分裂が阻害され、トキソプラズマの増殖が著しく抑制された。この増殖抑制メカニズム解明のため、まず、ジベレリン生合成阻害剤処理したトキソプラズマを電子顕微鏡解析により詳細に観察した。すると、被処理トキソプラズマの lipid body 様の構造の増加と肥大、及び、トキソプラズマミトコンドリアの膨張とクリステの構造の崩壊が観察された。さらに、ナイルレッド染色による蛍光顕微鏡観察では、被処理トキソプラズマは膜構造が染まらず、lipid body のみが強く染色され、その数も増加していた。一方、トキソプラズマは宿主の微小管を再構成し、そのことにより宿主の中性脂質を自身の周りに輸送することが知られているが、ジベレリン生合成阻害剤はこの宿主微小管の再構成を著しく阻害していた。現在これらの現象がトキソプラズマの分裂にどのように関わっているのかについて、解析を進めている。[青沼宏佳、永宗喜三郎]

##### イ、植物ホルモンサイトカイニンによるトキソプラズマの増殖制御機構の解明

サイトカイニンには植物が自然界で生合成しているものと人工合成されたものに大別でき、いずれも細胞分裂の促進、光合成の活性化、葉緑体の分化・増殖といった作用を持つことが知られている。そこでそれぞれのサイトカイニンをトキソプラズマの培養中に添加し、原虫の増殖率を測定したところ、天然サイトカイニン(trans-zeatin)は、高等植物の知見から期待されるとおり原虫の増殖が促進したが、合成サイトカイニン(thidiazuron)は逆に原虫の増殖を阻害した。この合成サイトカイニンによる原虫増殖抑制はマウスを用いた感染実験においても観察された。また高等植物において、サイトカイニンはある種のサイクリンの発現量を調節することで細胞周期を制御していることが知られている。そこで我々はトキソプラズマのゲノム・データベースから全てのサイクリン様遺伝子を同定し、それらのサイト

カイニン添加による発現量の変化を qPCR により経時的に観察した。その結果、ある特定のサイクリンの発現量が **trans-zeatin** 処理により 1,000 倍以上上昇し、**thidiazuron** 処理により約 100 倍減少していた。また、FACS による解析から、**trans-zeatin** は原虫の細胞周期のうち G1 期から S 期への移行を誘導し、**thidiazuron** は逆に S 期への移行を阻害していた。さらに通常原虫内に 1 つしか観察されないアピコプラストが **trans-zeatin** 処理によりその数が劇的に上昇し、**thidiazuron** 処理により消失した。これらの結果からトキソプラズマにおいて植物ホルモンであるサイトカイニンは、ある特定のサイクリンの発現を制御することで、原虫の細胞周期自体と、細胞周期の進行と厳密にリンクしているアピコプラストの分裂のタイミングを調節しているものと考えられた。[Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎]

ウ. 宿主細胞 GPI がトキソプラズマ感染に与える影響の解析

宿主側 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響を調べるため、GPI アンカー生合成能欠失変異 CHO 細胞の原虫への感受性を野生株と比較した。その結果、変異株は野生株に対し有意に感受性が上昇していた。また野生株と変異株では感染後期の増殖に差が認められた。これらのことから、宿主の GPI アンカー又は GPI アンカー型蛋白質が、原虫の増殖のうち後期の増殖のみを特異的に阻害している可能性が示唆された。原虫の増殖に影響を与える要因として、ロプトリー蛋白質に着目した。ロプトリー蛋白質は、**parasitophorous vacuole** 膜 (PV 膜) の形成に関与することが知られており、原虫の宿主侵入の際に小胞 (**evacuole**) として原虫から宿主に注入される。原虫による **ROP1**、**2** 及び **16** のそれぞれを指標に、**evacuole** 形成能を両細胞間で比較したところ、変異株で明らかに **evacuole** の形成が過剰になっていた。また、**ROP1**、**2** 及び **16** は過剰形成された **evacuole** 内で、共局在していた。増殖の際、PV 膜に宿主のミトコンドリアや ER がリクルートされ、特にミトコンドリアのリクルートには **ROP2** が関与することが報告されている。そこで原虫のミトコンドリア・リクルート能を両細胞間で比較したところ、変異株内でのリクルートが増加していた。これらのことから、GPI 生合成能欠失株では、原

虫による **evacuole** 形成が過剰になり、PV 膜へのミトコンドリア・リクルート能が増加した結果、増殖が増大した可能性が示唆された。現在 **evacuole** 及び PV 膜内への宿主 GPI の取込みを解析中である。[田原美智留、永宗喜三郎]

エ. トキソプラズマによる宿主細胞機能修飾機構の解明

トキソプラズマが宿主細胞内で増殖する際、宿主の機能を「ハイジャック」し利用していることはよく知られている。このハイジャックは原虫が宿主細胞内に注入するタンパク質群であるロプトリータンパク質によってコントロールされることが知られているが、今回そのうちの一つ、**ROP18** が宿主の転写活性化因子 **ATF6b** を分解することを見出した。**ATF6b** は宿主の免疫機能を活性化することが知られているので、本現象はトキソプラズマの生き残り戦略に重要な役割を担っている可能性が示唆された。また **ROP18** はヒトに急性感染を起こす原虫株にだけ発現していることが知られているので、本知見はヒト急性トキソプラズマ症発症機構の解明にも貴重な知見となることが期待できる。[山本雅裕 (大阪大学)、永宗喜三郎]

オ. トキソプラズマをモデルとした抗マラリア薬作用機序の解明

三日熱マラリアは熱帯熱マラリアと比べ、症状は軽い治療後数ヶ月〜数年後に再発するという特徴があり、この再発は肝臓に形成されるヒプノゾイトが原因である。プリマキンは三日熱マラリアの唯一の根治薬として、半世紀以上前から今日まで使用され続けている。しかし三日熱マラリア原虫は連続培養系が確立されていないため、プリマキンの原虫に対する作用機序は殆ど解明されていない。そこで三日熱マラリア原虫と近縁なトキソプラズマを用いて、プリマキンが原虫に作用するメカニズムの解明を試みた。プリマキンはトキソプラズマの増殖を有意に抑制した ( $IC_{50}=25 \mu M$ )。またプリマキンはトキソプラズマの運動を有意に阻害した。そこで現在、この運動阻害という現象を手がかりに、プリマキンの作用機序を解明しようと試みている。[富士路花 (筑波大学)、永宗喜三郎]

(4) マラリア原虫の病原機構・生物学・代謝に関する研究

ア.マラリア原虫の小胞輸送の解析

赤内期のマラリア原虫は寄生胞膜を介して赤血球細胞質中のヘモグロビンをエンドサイトーシスし、栄養源を摂取する。マラリア原虫のエンドサイトーシスには低分子量 GTPase の PfRab5a が関与することが報告されている。ゲノムの検索により、PfRab5 には3つのアイソタイプが存在し、その中の PfRab5b は膜への結合が N 末端のミリストイル化に依存し、全てのマラリア原虫種と *Toxoplasma gondii* に保存されていることがわかっている。PfRab5b の抗体作製と生化学実験のために大腸菌内でリコンビナント蛋白質の発現を試みた。GST や His 融合蛋白質等、複数の発現条件を検討した結果、pCold1-TF ベクターによる低温条件でのタンパクの発現誘導、かつ大腸菌内でのシャペロンとの共発現では抗体を作製するのに十分な組み換えタンパク質を得ることはできなかった。最終的に、コドンで大腸菌 K12 株に最適した人口遺伝子 PfRab5b を合成し、シャペロン能を持つ pColdTF ベクターで発現を試みた。人工合成遺伝子とゲノム配列のヌクレオチドレベルでの相同性は75%であった。その結果 400ml の大腸菌培養液から抗体作成に十分な 1.7mg のリコンビナントタンパク質を得た。この人工合成遺伝子で得られたリコンビナントタンパク質は抗体を作成するのに使用されるとともに、in vitro で PfRab5b との結合タンパク質の探索にも使用可能である。

[中野由美子、中曽根英子]

イ. 増殖因子による熱帯風マラリア原虫の分化増殖作用の機序

熱帯風マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の赤内型分化増殖を制御する因子を特定し、その作用機序を解析し、治療薬およびワクチン開発に役立てることを目途とし、先に chemically-defined medium を作出した。これによって完全増殖達成とともなって、ここに見出されたいくつかの必須増殖因子の構成を変化させることによって、各発育段階に発育を制御することが出来るようになった。この培養システムは広範なマラリア研究に応用出来ると考えられる。[朝日博子]

(5) エキノコックス原頭節の分化関連遺伝子に関する

研究

エキノコックス属の条虫幼虫は原頭節という特異的な形態を示す。この原頭節は、中間宿主体内では無性増殖・転移してエキノコックス症が示す強い病原性の原因となる一方、終宿主に経口摂取された場合は、同発育ステージである原頭節へと再分化するのではなく、次の発育ステージである成虫へと変化し、有性生殖を行って感染源となる虫卵を産生する。このようなエキノコックス属条虫の各発育ステージに特異的に発現する遺伝子群を網羅的に同定するため、公共データベースに公開されているゲノム情報を用い、トランスクリプトーム解析に使用する DNA マイクロアレイに搭載するプローブの設計と選別を実施した。[森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]

## レファレンス業務

I. 衛生微生物技術協議会・レファレンスセンター会議

第 31 回衛生微生物技術協議会 (5 月 25~26 日、鹿児島市) において寄生虫に関するレファレンスセンター会議を行った。施設内赤痢アメーバ症の実態把握に関する研究、及び、国内における消化管寄生原虫症の現状や気候・環境変化に伴う寄生虫症の変容に関し、情報交換を行った。さらに、上記の課題について関連のある地研と議論した。[大前比呂思、山崎 浩、八木田健司、野崎智義]

II. 原虫類のレファレンス活動

感染研および外部共同研究機関 (医療機関、地方衛生研究所等) の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。更に、海外渡航者および HIV 感染者を中心に、下痢症の確定診断を目的として原因となる原虫の検査を行っている。本年度は 46 検体を検査し、赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、ジアルジア、サイクロスポラを検出した。

また国内で発生する自由生活性アメーバ感染の検査診断を行っており、アメーバ性角膜炎の検体については本年度 23 検体を検査し、アメーバ検出、分離同定を行った。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子]



### III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成22年度には、計92件の寄生虫症依頼検査があり、うち72件が寄生虫症と確定診断された。

(1) 血清を用いた寄生虫抗体検査(20件、うち6例陽性)

線虫8種(ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫4種(有鉤囊虫、マンソン弧虫、多包虫、単包虫)、吸虫6種(ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫)の抗原を用いた抗体検査が可能であり、通常はELISA(酵素抗体法)を実施しているが、寄生虫症によって、dot-blot、western blot(有鉤囊虫症、エキノコックス症)、あるいは虫体切片標本を用いた免疫染色検査(旋尾線虫症)を行っている。7検体で特異抗体が検出され、内訳は肺吸虫症(2)、有鉤囊虫症(2)、有鉤条虫症(1)、単包虫症(1)、マンソン住血吸虫症(1)、旋尾旋虫症(1)であった。[山崎 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之]

(2) 遺伝子解析による寄生虫の分子同定

自然排出あるいは駆虫された虫体、あるいはパラフィン包埋標本中に見出された虫体の同定依頼は64件にも達し、前年度に比べ約3倍増加した。基本的にはミトコンドリアDNAのcox1遺伝子の解析結果に基づいて種の同定を行った。64件中62例が寄生虫症と診断され、その内訳は、日本海裂頭条虫(30)、アジア条虫(15)、無鉤条虫(8)、有鉤条虫(3)、マンソン孤虫(2)、肝毛細虫(1)、アメリカ鉤虫(1)、*Anisakis simplex*(1)、タヌキ回虫(1)であった。傾向としては、サケ・マスの刺身や寿司を好む日本人の食生活習慣を反映して、日本海裂頭条虫症が相変わらず多かったが、特筆すべきことは、日本には分布しないと考えられていたアジア条虫による国内感染事例が17例確認されたことであった。[山崎 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之]

(3) その他

虫体そのものの形態、あるいは病理組織学的検査によって診断された症例が3例あり、内訳は日本住血吸虫症(1)、鞭虫症(1)、セルカリア性皮膚炎(1)であった。[山崎 浩,

武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之]

研修

I. 平成22年度水道クリプトスポリジウム試験法実習(国立保健医療科学院主催)にて、水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。その他、地研からの要請に対して適宜行った。[八木田健司、泉山信司]

II. 平成22年度希少感染症診断技術研修会においてアメーバ性脳炎の疫学・臨床・診断を概説した。[八木田健司]

III. 平成22年度短期研修新興再興感染症技術研修にて、寄生動物(原虫)の実習を行った。寄生虫卵検出法、ならびに病理組織切片を用いたDNA検査に関する技術研修を行った。[泉山信司、八木田健司、森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩]

IV. 国際協力機構(JICA)の中南米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、「Malaria and blood donor」に関する研修と実習を行った。[大前比呂思、泉山信司、布施晃(血液・安全性研究部)]

V. 中国からのWHOフェロシップ向け日本の環境衛生監視システム研修にて、水系感染症対策に関して講義した。[泉山信司、片山和彦(ウイルス第二部)、大西 真(細菌第一部)]

VI. 平成22年度生活衛生関係技術担当者研修会(厚生労働省健康局生活衛生課)において、レジオネラと自由生活性アメーバの対策について講義した。[泉山信司、倉文明(細菌第一部)]

VII. 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムに協力して、「臨床や公衆衛生の現場で問題となる寄生虫の考え方」に関する研修を行った。[大前比呂思]

VIII. Field Epidemiology Training Program (FETP) 初

期研修に協力し、「国際的な寄生虫対策と疫学の変化」に関する研修を行った。[大前比呂思]

IX. 東京国際空港（羽田空港）の国際便増加による検疫業務の拡充に際し、マラリア検査診断の研修を行うと同時に、同空港における適正な輸入寄生虫症の検疫業務のあり方について、技術的助言を行った。

[大前比呂思]

X. 輸血マラリアのリスクに関する研修を、日本赤十字社東京支部において行うと同時に、献血時のマラリアスクリーニングについて、技術的助言を行った。[大前比呂思]

XI. 国際協力機構（JICA）のアフリカ向け研修コース、地域保健システム強化による感染症対策に協力して、「寄生虫症のサーベイランスと対策」に関する研修を行った。[大前比呂思]

XII. 屠畜場で検出された多包虫症の DNA 検査・診断に関する研修を実施した。参加者は青森県十和田市食肉検査所、山形内陸食肉検査所、長野県上田市食肉検査所の担当者、計7名。[山崎 浩, 川中正憲, 武藤麻紀, 森嶋康之, 杉山 広]

## 国際協力関係業務

### 1. インド国立コレラ下痢症研究所との連携

インドコルカタの下痢症の原因の多くを占める原虫症である赤痢アメーバ症、ジアルジア症、クリプトスポリジウム症に関する共同研究を継続した。特にクリプトスポリジウムやジアルジアの遺伝子型別を主に行った。[野崎智義, Sandipan Ganguly (National Institute of Cholera and Enteric Diseases)]

### 2. 台湾 CDC との連携

感染研と台湾国 CDC の関係強化と今後の共同研究の取り組みを協議するため、The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine に出

席し、薬剤耐性マラリアの発生と流行について発表した。また、台湾 CDC の寄生虫学教室の研究者達と赤痢アメーバの流行状況と輸入マラリアの検査体制について協議を行った。台湾と日本に流行する赤痢アメーバ株の遺伝子型のタイピング法について討論を行った。

[中野由美子、津久井久美子、Dar-Der Ji (台湾 CDC)、野崎智義]

### 3. 国立寄生虫研究所、中国 CDC との連携

中国寄生虫研究所と協力して、安徽省における最近の気候・環境変化と、三日熱マラリア発生との関連について分析した。日照時間・気温(最高、最低、平均)・降水量と三日熱マラリア発症者数の相関を分析したところ、5、10月の平均気温が高いほど発生数も多くなる傾向が確認された。

[大前比呂思、湯林華 (中国寄生虫研究所)、石川洋文 (岡山大学)]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 原著論文、総説 (欧文)

1) Yousuf, M. A., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Localization and targeting of unusual pyridine nucleotide transhydrogenase in *Entamoeba histolytica*. Eukaryot. Cell 9, 926-933, 2010.

2) Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Husain, A., and Nozaki, T. Conservation and function of Rab small GTPases in *Entamoeba*: annotation of *E. invadens* Rab and its use for the understanding of *Entamoeba* biology. Exp. Parasitol. 126, 337-347. (Review), 2010.

3) Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Ali, V., Suematsue, M., Soga, T., and Nozaki, T. Two Atypical L-cysteine-regulated NADPH-dependent oxidoreductases involved in redox maintenance, L-cystine reduction, and metronidazole activation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem., 285, 26889-26899, 2010.

4) Saito-Nakano, Y., Nakahara, T., Nakano, K., Nozaki, T., and Numata, O. Marked amplification and diversification of Rab GTPases in ciliates *Tetrahymena*

- thermophila* and *Paramecium tetraurelia* J. Eukaryot. Microbiol. 57, 389-399 2010.
- 5) Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. (2010) Metabolome analysis revealed increase in S-methylcysteine and phosphatidylisopropanolamine synthesis upon L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem. 285, 39160-39170, 2010.
- 6) Mukherjee, A. K., Das, K., Bhattacharya, M. K., Nozaki, T. and Ganguly, S. Trend of *Entamoeba histolytica* infestation in Kolkata. Gut Pathogens 2:12doi:10.1186/1757-4749-2-12, 2010.
- 7) Mishra, V., Ali, V., Nozaki, T., and Bhakuni V. Biophysical characterization of *Entamoeba histolytica* phosphoserine aminotransferase (EhPSAT): role of cofactor and domains in stability and subunit assembly. Eur Biophys J. 40, 599-610, 2011.
- 8) Yamamoto, M., Ma, J.S., Mueller, C., Kamiyama, N., Saiga, H., Kubo, E., Kimura, T., Okamoto, T., Megumi, Okuyama, M., Kayama, H., Nagamune, K., Takashima, S., Matsuura, Y., Soldati-Favre, D., and Takeda, K. ATF6 $\beta$  is a host cellular target of the *Toxoplasma* virulence factor ROP18. J. Exp. Med., 208, 1533-1546, 2011
- 9) Taguri T., Oda Y., Sugiyama K., Nishikawa T., Endo T., Izumiyama S., Yamazaki M., Kura F. A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of *Legionella* in bath water. J. Microbiol. Methods, 86, 25-32, 2011
- 10) Furuya K., Sugiyama H., Ohta M., Nakamura S., Une Y., Sasaki S.: Cerebral microsporidiosis caused by *Encephalitozoon cuniculi* infection in a young squirrel monkey. J. Neuroparasitol., 2,N11071,2011
- 11) Takeda M., Sugiyama H., Rangsiruji A. Freshwater crabs from Surat Thani, Peninsular Thailand, as intermediate hosts of lung flukes. J. Teikyo Heisei Univ, 21, 149-158, 2010.
- 12) Umehara A., Kawakami Y., Ooi H.-K., Uchida A., Ohmae H., Sugiyama H. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. Int. J. Food Microbiol., 143, 161-165, 2010.
- 13) Takamiya S., Fukuda K., Nakamura T., Aoki T., Sugiyama H. *Paragonimus westermani* possesses aerobic and anaerobic mitochondria in different tissues, adapting to fluctuating oxygen tension in microaerobic habitats. Int. J. Parasitol., 40, 1651-1658, 2010.
- 14) Singh T.S., Sugiyama H., Devi K.R., Singh L.D., Binchai S., Rangsiruji A. Experimental infection with *Paragonimus heterotremus* metacercariae of laboratory animals in Manipur, India. Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health, 42, 34-38, 2011.
- 15) Singh T.S., Khamo V., Sugiyama, H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: First case report in India. Trop. Parasitol., 1, 39-41, 2011.
- 16) Nkouawa A., Sako Y., Itoh S., Kouojip-Mabou A, Nganou C. N., Knapp J., Yamasaki H., Nakao M., Moyou-Somo R., Ito A. Serological studies of neurologic helminthic diseases in Southern Cameroon: toxocarasis, paragonimiasis, cysticercosis. PLoS Negl. Trop. Dis., 4:e723, 2010.
- 17) Joshi D. D., Yamasaki H. Porcine echinococcosis/hydatidosis in Nepal: histopathological and molecular confirmation. J. Inst. Med., 32:54-58, 2010.
- 18) Dang T. C., Nguyen T. H., Do T. D., Uga S., Morishima Y., Sugiyama H., Yamasaki H. A human case of subcutaneous dirofilariasis caused by *Dirofilaria repens* in Vietnam: histologic and molecular confirmation. Parasitol. Res., 107, 1003-1007, 2010.
- 19) Mercado R., Yamasaki H., Kato M., Munoz V., Sagua H., Torres P., Castillo D. Molecular identification of the *Diphyllobothrium* species causing diphyllobothriasis in Chilean patients. Parasitol. Res., 105, 583-586, 2010.
- 20) Goto Y., Sato K., Yahagi K., Komatu O., Hoshina H., Abiko C., Yamasaki H., Kawanaka M. Frequent isolation of *Echinococcus multilocularis* from the liver of racehorses slaughtered in Yamagata, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 63, 80-81, 2010.
- 21) Tanabe K, Mita T, Jombart T, Eriksson A, Horibe S,

- Palacpac N, Ranford -Cartwright L, Sawai H, Sakihama N, Ohmae H, Nakamura M, Ferreira MU, Escalante AA, Prugnolle F, Bjorkman A, Farnert A, Kaneko A, Horii T, Manica A, Kishino H, Balloux F. *Plasmodium falciparum* accompanied the human expansion out of Africa. *Curr. Biol.* 20, 1283-9. 2010
- 22) Yamauchi T, Nakazawa M, Ohmae H, Kamei K, Sato K, Bakote'e B. Impact of ethnic conflict on the nutritional status and quality of life of suburban villages in the Solomon Islands. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 56, 227-34, 2010
- 23) Kumagai T, Furushima-Shimogawara R, Ohmae H, Wang TP, Lu S, Chen R, Wen L, Ohta N. Detection of early and single infections of *Schistosoma japonicum* in the intermediate host snail, *Oncomelania hupensis*, by PCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 83, 542-548, 2010.
- 24) Kirinoki M, Chigusa Y, Ohmae H, Matsumoto J, Kitikoon V, Sinuon M, Saem C, Socheat D, Matsuda H. Efficacy of sodium metaperiodate (SMP)-ELISA for the serodiagnosis of schistosomiasis mekongi. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health*, 42, 25-33, 2011
- 25) Asahi, H., Izumiyama, S., Tolba, M.E.M., Kwansa-Bentum, B. *Plasmodium falciparum*: Differing effects of non-esterified fatty acids and phospholipids on intraerythrocytic growth in serum-free medium. *Exp. Parasitol.*, 127, 708-713, 2011.
- 26) Kwansa-Bentum, B., Ayi, I., Suzuki, T., Otchere, J., Kumagai, T., Anyan, W.K., Osei, J.H.N., Asahi, H., Ofori, M., Akao, N., Wilson, M.D., Boakye, D.A., Ohta, N. *Plasmodium falciparum* isolates from southern Ghana exhibit polymorphisms in the SERCA-type PfATPase6 though sensitive to artesunate in vitro. *Malar J.* 2011, in press.
- 27) Kwansa-Bentum, B., Ayi, I., Suzuki, T., Otchere, J., Kumagai, T., Anyan, W.K., Asahi, H., Akao, N., Wilson, M.D., Boakye, D.A., Ohta, N. Compliance to artesunate-amodiaquine regimen: perspectives and practices of health professionals after five years of implementing artemisinin-based combination therapy in Ghana. *Trop. Med. Int. Health*, 2011, in press.
2. 原著論文、総説（和文）
- 1) 佐藤暖、野崎智義 赤痢アメーバ原虫に対するトリフルオロメチオニン誘導体の有効性 *ビタミン* 84, 250-254.
- 2) 永宗喜三郎. トキソプラズマが産生する植物ホルモン, 感染症・炎症・免疫, 40, 181-183, 2010
- 3) 高岡紀子, 八木田健司, 山上聡, 亀井裕子, 松原正男. 当院で得られたアカントアメーバの遺伝学的分類, *眼科*, 52, 1811-1817, 2010
- 4) 八木田健司, アメーバ性脳炎, 病原微生物検出情報, 31, 23-24, 2010
- 5) 八木田健司、泉山信司、レジオネラ属菌とアメーバ/レジオネラ症のリスクマネジメント 4、防菌防黴, 38, 167-179, 2010
- 6) 岸田直裕, 古川一郎, 黒木俊郎, 猪又明子, 泉山信司, 森田重光, 秋葉道宏. リアルタイム RT-PCR 法を用いた河川試料水中のクリプトスポリジウムの高感度定量, *日本水処理生物学会誌*, 46, 181-189, 2010
- 7) 杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山崎 浩, 川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサ ワガニ加熱条件の検討. *Clinical Parasitology* (臨床寄生虫学会誌) 21: 43-45, 2010.
- 8) 杉山 広. 食品と寄生虫感染症. *食品衛生学雑誌*, 51: 285-291, 2010.
- 9) 小出照子, 山崎 浩, 渡辺伸元, 木許 泉, 河邊太加志. 日本海裂頭条虫症の兄妹例. *日本小児科学会誌* 114: 1065-1068, 2010.
- 10) 西尾福真理子, 吉川正英, 王寺幸輝, 石坂重昭, 笠原 敬, 三笠桂一, 福井 博, 久保里美, 平 康二, 山崎 浩. 2009年に経験した日本海裂頭条虫症の5例. *Clinical Parasitology*, 21: 26-28, 2010.
- 11) 山崎 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 椎木 創一, 奥山久仁男, 国島文史. Racemose 型有鉤囊虫による脳有鉤囊虫症の1例. *Clinical Parasitology*, 21: 29-32, 2010.
- 12) 荒木 潤, 安部正史, 白倉哲郎, 田中和生, 下間 祐, 井廻道夫, 森本栄治, 中村揚介, 山崎 浩. 自然排虫

された幼若裂頭条虫の鑑別例. *Clinical Parasitology*, 21: 37-39, 2010.

13) 安倍正史, 木村 聡, 白倉哲郎, 荒木 潤, 山崎 浩, 光谷俊幸, 太田秀一, 諸星利男, 九島巳樹, 田中 和生. 病理解剖遺体調査で遭遇した寄生虫学的に興味ある2症例について. *Clinical Parasitology*, 21: 50-54, 2010.

14) 山崎 浩. 免疫血清検査と遺伝子検査で確認できる寄生虫と依頼方法. *Medical Practice* 27:1527-1531, 2010.

15) 木村有太子, 須賀 康, 水野優起, 松葉祥一, 山崎 浩, 高宮信三郎, 青木 孝. キチマダニ刺咬症の1例. *臨床皮膚科*, 65: 269-272, 2011.

16) 川中正憲, 山崎 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子. ペットとして飼養されているアライグマのアライグマ回虫に関する調査. *病原微生物検出情報*, 31: 212-213, 2010.

17) 後藤芳恵, 佐藤 和, 矢作一枝, 小松 修, 保科 仁, 安孫子千恵子, 山崎 浩, 川中正憲. 山形県でと畜された軽種馬の肝臓から高率に検出されたエキノコックス(多包虫). *病原微生物検出情報*, 31: 210-212, 2010.

18) 大前比呂思, 千種雄一. : 肝住血吸虫症 p. 98-102. 肝・胆道系症候群(第2版)肝臓編(上) 井廻道夫 編集. 日本臨床社, 大阪, 2010

19) 大前比呂思: 肝原虫症(マラリアとトキソプラズマ) p. 120-126. 肝・胆道系症候群(第2版)肝臓編(上) 井廻道夫 編集. 日本臨床社, 大阪, 2010

20) 大前比呂思 : プラジカンテル, メベンダゾール, アルベンダゾール, トリクラベンダゾール. *Medical Practice*. 27: 1549-1554. 2010

21) 大前比呂思, 千種雄一. : 肝外胆道寄生虫症 p. 489-496, 肝・胆道系症候群(第2版)肝臓外胆道編 井廻道夫 編集 日本臨床社, 大阪, 2011

3. 書籍(英文) Asahi, H. Intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* growth in serum-free medium with an emphasis on growth-promoting factors. In "Malaria Parasites", published by InTech, in press.

#### 4. 書籍(和文)

1) 山崎 浩. 抗寄生虫 IgG 抗体. *臨床検査ガイド*

2011~2012, 文光堂, 2011年3月.

#### II. 学会発表

##### 1. 国際学会

1) Sato, D., Husain, A., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolic analysis of the human enteric parasite *Entamoeba histolytica*: Discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapeutics. *Metabolomics 2010*, Amsterdam, The Netherlands, June 27-July 1, 2010.

2) Jeelani, G., Sato, D., Jusain, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomics of parasite differentiation: metabolomic profiling of the human enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* revealed activation of unpredicted pathways during differentiation of the proliferative into dormant stage. *Metabolomics 2010*, Amsterdam, The Netherlands, June 27-July 1, 2010.

3) Nozaki, T. Unprecedented role of the mitosome in *Entamoeba histolytica*. The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, July 2-7, 2010.

4) Nozaki, T. Mitosomes from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* possess unique functions and minimal import machinery. The XIIth International Congress of Parasitology. Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

5) Saito-Nakano, Y., Okada, M., Penuliar, G., M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, Ni., and Nozaki, T. Diversity and significance of vesicular trafficking in *Entamoeba histolytica*. *Amebiasis Workshop 2010*, "Molecular Approaches and Clinical Aspects" Montreal, Canada, September 22-24, 2010.

6) Nozaki, T., Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Suematsu, M., and Soga, T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*: discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapy. *Amebiasis Workshop 2010*, "Molecular Approaches and Clinical Aspects", Montreal, Canada, September 22-24, 2010.

- 7) Penuliar, G. and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. Amebiasis Workshop 2010, "Molecular Approaches and Clinical Aspects", Montreal, Canada, September 22-24, 2010.
- 8) Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: Transcriptome analysis during encystation. 21st Molecular Parasitology Meeting, WoodsHole, Massachusetts, USA., September 12-16, 2010
- 9) Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. Biology of Symbiosis: Memorial Symposium for the 26th International Prize for Biology-Celebrating Dr. Nancy A. Moran. Tsukuba, Japan, December 7-8, 2010.
- 10) Saito-Nakano, Y., Nakano, K., and Nozaki, T. Diversity of vesicular trafficking in phagocytic protozoa and significance of traffic in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 11) Penuliar, G. M., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 12) Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: transcriptome analysis during encystation. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 13) Jeelani, G., Sato, D., Husein, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis during differentiation of enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* into the infectious cyst stage. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 14) Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Mi-ichi, F., Ali, V., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis of sulfur containing amino acid metabolism in *E. histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 15) Andrabi, S. B. A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., and Nagamune, K. Plant hormone cytokinins: elucidating their role in *Toxoplasma gondii*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 16) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Trafficking mechanisms of phagosomal proteins in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 17) Mi-ichi, F., Yousuf, A., Makiuchi, T., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Gene silencing of mitosomal proteins causes growth inhibition and suggests essentiality of mitosomes in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 18) Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.
- 19) Nagamune, K. Protozoan parasites and plant hormones. International Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsukuba, Nov. 8, 2010.
- 20) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. The effect of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*. The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, Jul. 2-7, 2010.
- 21) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. Plant hormone cytokinins: Elucidating their role in *Toxoplasma gondii*. Molecular Parasitology Meeting XXI, Woods Hole, MA, USA, Sep. 12-16, 2010.
- 22) Fkshi, M., Aonuma, H., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Nagamune, K. Analyzing the mechanism of action of primaquine on *Toxoplasma gondii*. International Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsukuba, Nov. 8, 2010.

23) Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Aonuma, H., Kinoshita, T., and Nagamune, K. The effect of host GPI-anchor to *Toxoplasma gondii* infection. 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan.10-11, 2011.

25) Yagita, K. and Izumiyama, S. 18SrDNA sequence typing on the clinical isolates of *Acanthamoeba* in Japan. 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan.10-11, 2011.

26) Izumiyama, S., Inomata, A., Kishida, N., Katsuyama, S., Momoda, T., Usui, K., Akiba, M., Yagita, K. and Endo, T. Development of nucleic acid amplification assays for highly sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples. Intestinal and Free-Living Protozoan Parasites Meeting, Tokyo, Jan. 12, 2011

27) Umehara A, Kawakami Y, Ooi H.-K, Uchida A, Ohmae H, Sugiyama H. Molecular identification of Anisakis type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. The XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

28) Yamasaki H., Kawanaka M., Arakawa K., Kato M., Muñoz V., Sagua H., Castillo D., Mercado R. The origin of *Diphyllobothrium latum* from Chile based on mitochondrial DNA analysis. The XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

29) Mercado R., Yamasaki H., Fredes F., Maulen N., Ramirez C., Gómez H., Cerva J, L., Gil L. C., Castillo D. Diferenciación molecular y morfológica de huevos de *Diphyllobothrium* de casos humanos y animales de Chile. Simposio Internacional XIIth Jornadas Anuales de Parasitología Chile bicentenario 2010, Santiago, Chile, November 18-19, 2010.

30) Asahi, H. Genome-wide gene expression of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* in different developmental stages of the parasite. XIIth International

congress of parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

31) Yumiko Saito-Nakano (2010) Genetic identification of drug resistance in *Plasmodium falciparum* using archive blood smears. The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine. Taipei, Taiwan Sep 9-10, 2010.

32) Ohmae H, Bito N, Nakagawa N, Fueda T, Ishikawa H. Risk analysis of vivax airport malaria in Japan The 8th international conference on travel medicine in Asia and the Pacific, Nara, Japan, November 8-11, 2010.

33) Ohmae H, Kirinoki M, Suniko LS, Boldeero NP, Viacorte EA, Solon AA, Leonard LR, Leshem E, Chigusa Y. Surveys on newly found endemic foci in Southeast Asian countries 2. The 45th Japan-US Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, Japan, January 10-11, 2011.

34) Yumiko Saito-Nakano, Kentaro Nakano, Tomoyoshi Nozaki. Diversity of vesicular trafficking in phagocytic protozoa and significance of traffic in *Entamoeba histolytica*. The 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases: Intestinal and Free-Living Protozoan Parasites Meeting. Tokyo, Japan, January 10-11, 2011

## 2. 国内学会

1) 古川敦、津久井久美子、山田陽子、坪井久美子、野崎智義 赤痢アメーバにおける病原性因子輸送機構の分子論的解明：新規システインプロテアーゼレセプターの同定と機能解析 第 79 回日本寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.

2) 見市文香、牧内貴志、モハンマド・アブ・ユースフ、野崎智義 赤痢アメーバ原虫”mitosome”に存在する硫酸活性化経路の生理機能の解明 第 79 回日本寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.

3) 牧内貴志、見市文香、津久井久美子、野崎智義 *Entamoeba* マイトソームにおけるタンパク質輸送機構の解析 第 79 回日本寄生虫学会大会 旭川 May 20-21, 2010.

4) Nozaki, T., Mi-ichi, F., Makiuchi, T., Yousuf, M. A.,

Nakada-Tsukui, K. Functional diversity of mitochondrion-related organelles in eukaryotes. 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 神戸、December 7-10, 2010 (WS 進化からみたタンパク質社会)

5) Andrabi, S. B. A., 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和祐、野崎智義 トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 神戸、December 7-10, 2010 (WS 細胞内共生オルガネラが駆動する生物の進化と多様性)

6) 村野祥子、佐藤暖、唐木剛、岡知宏、亀井加恵子、中沢隆、野崎智義、原田繁春 一連の酵素反応中間体との複合体構造に基づいた *Entamoeba histolytica* メチオニンガンマリアーゼ 1 の酵素反応機構 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 神戸、December 7-10, 2010

7) 永宗喜三郎. The role of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*, 筑波大学「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」若手フェスティバル 2010, 長野県上田市, 2010年5月13-14日

8) Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留, 青沼宏佳, 遠山知子, 田邊和祐, 野崎智義, 永宗喜三郎. トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月7-10日

9) 永宗喜三郎. トキソプラズマの生存戦略と進化, 帯広畜産大学 基礎獣医学研究部門セミナー, 帯広, 2011年1月28日

10) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. The effect of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*, 第79回日本寄生虫学会, 旭川, 2010年5月20-21日

11) 青沼宏佳, 遠山知子, 田原美智留, Andrabi, S.B.A., 田邊和祐, 永宗喜三郎. 植物ホルモンジベレリン生合成阻害剤はトキソプラズマの増殖を抑制する, 第79回日本寄生虫学会, 旭川, 2010年5月20-21日

12) 遠山知子, 永宗喜三郎, 川出洋, 堀井俊宏, 田邊和祐. Inhibitors of gibberellin, a plant hormone, induces

swelling and rupture of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*, 第79回日本寄生虫学会, 旭川, 2010年5月20-21日

13) 田原美智留, Andrabi, S.B.A., 青沼宏佳, 木下タロウ, 永宗喜三郎. 宿主細胞側 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響, 第79回日本寄生虫学会, 旭川, 2010年5月20-21日

14) Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留, 青沼宏佳, 遠山知子, 田邊和祐, 野崎智義, 永宗喜三郎. トキソプラズマは植物ホルモン・サイトカイニンを産生し、原虫の増殖調節に用いている, 第18回分子寄生虫学ワークショップ, 群馬県 2010年8月2-5日

15) Syed Bilal Ahmad Andrabi, 田原美智留, 青沼宏佳, 遠山知子, 田邊和祐, 野崎智義, 永宗喜三郎. トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖における影響, 第9回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 長崎, 2010年10月8-9日

16) 川口垂左子, 武信二三枝, 矢倉慶子, 金田周三, 宮崎 大, 井上幸二, 八木田健司. 著明な血管侵入を伴う角膜混濁を来したアカントアメーバ角膜炎の一例, 第35回日本角膜学会総会・第27回日本角膜移植学会, 東京, 2011年2月17日

17) 泉山信司, 溝口智子, 百田隆祥, 遠藤卓郎. クリプトスポリジウム検査の添加回収実験による濃縮精製法の比較と迅速遺伝子検出法の検討, 第10回環境技術学会, 京都市, 2010年9月10日

18) 岸田直裕, 今野祥顕, 秋葉道宏, 猪又明子, 泉山信司. 水道クリプトスポリジウム検査への遺伝子検査法導入に関する研究, 第4回保健医療科学研究会, 和光, 2010年12月17日

19) 杉山寛治, 神田 隆, 西尾智裕, 八木美弥, 田栗利紹, 泉山信司, 八木田健司, 倉 文明, 小坂浩司, 遠藤卓郎. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロロミンの消毒効果, 日本防菌防黴学会第37回年次大会, 東京, 2010年9月28-29日

20) 神野透人, 高橋淳子, 竹熊美貴子, 香川 (田中) 聡子, 古川容子, 泉山信司, 遠藤卓郎. モデル浴槽のモノクロロミン消毒副生成物に関する暴露評価, 日本防菌防黴学会第37回年次大会, 東京, 2010年9月28-29日

21) 神田 隆, 高橋奈緒美, 八木美弥, 西尾智裕, 杉山



寛治, 泉山信二, 常 彬, 倉文 明, 遠藤卓郎. EMA-qPCR による浴槽水中のレジオネラ生菌検出法の検討, 日本防菌防黴学会第37回年次大会, 東京, 2010年9月29日

22) 岸田直裕, 秋葉道宏, 泉山信司, 宮田 亮, 野田尚宏, 関口勇地, 古田篤史, 常田 聡. 新規遺伝子定量手法 ABC-PCR 法を用いた水中の病原微生物の定量, 第44回日本水環境学会年会, 福岡, 2010年3月15-17日

23) 百田隆祥, 太田嘉則, 神田秀俊, 猪又明子, 泉山信司, 遠藤卓郎. RT-LAMP 法を用いたクリプトスポリジウムの高感度迅速検出, 第44回日本水環境学会年会, 福岡, 2010年3月15-17日

24) 杉山 広. 食品を介する感染症-身近に潜む寄生虫の話. 平成22年度岩手大学獣医学科公開講座, 盛岡, 2010年6月5日.

25) 杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. 第21回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 2010年6月19日.

26) 杉山 広. 食品を介して感染する人獣共通寄生虫症としての肺吸虫症, 平成22年度日本大学公開国際シンポジウム「アジアにおける食品由来人獣共通感染症の現状と対策」. 藤沢, 2010年12月18日.

27) 山崎 浩, 川中正憲, 荒川京子, 斎藤典子, 加藤恵基, メルカド ルーベン. 南米チリのギンザケに寄生する裂頭条虫属プレロセルコイド. 第79回日本寄生虫学会大会, 旭川, 2010年5月20日-21日.

28) 石井 明, 田中篤太郎, 川路博史, 大橋寿彦, 道伝整, 山崎 浩. 病理組織標本のミトコンドリア DNA 検査により確定されたアジア型有鉤囊虫症について. 第79回日本寄生虫学会大会, 旭川, 2010年5月20日-21日.

29) 西尾福真理子, 吉川正英, 王寺幸輝, 石坂重昭, 笠原 敬, 三笠桂一, 福井 博, 久保里美, 平 康二, 山崎浩. 2009年に経験した日本海裂頭条虫症の5例. 第21回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 自治医科大学, 2010年6月19日.

30) 山崎 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 椎木創一, 奥山久仁男, 国島文史. Racemose 型有鉤囊虫による脳有鉤囊虫症の1例. 第21回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 自治医科大学, 2010年6月19日.

31) 荒木 潤, 安部正史, 白倉哲郎, 田中和生, 下間 祐,

井廻道夫, 森本栄治, 中村揚介, 山崎 浩. 自然排虫された幼若裂頭条虫の鑑別例. 第21回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 自治医科大学, 2010年6月19日.

32) 安倍正史, 木村 聡, 白倉哲郎, 荒木 潤, 山崎 浩, 光谷俊幸, 太田秀一, 諸星利男, 九島巳樹, 田中和生. 病理解剖遺体調査で遭遇した寄生虫学的に興味ある2症例について. 第21回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 自治医科大学, 2010年6月19日.

33) 山崎 浩. 寄生虫感染症の遺伝子診断における最近の進歩. 静岡県寄生虫症研究会 第15回研究総会特別講演, 浜松, 2010年9月11日.

34) 中野由美子, 美田敏宏, 中曾根英子, 田邊和裕. アーカイブ標本による熱帯熱マラリア原虫における薬剤耐性遺伝子型の同定. (Genetic identification of drug resistance in Plasmodium falciparum from Africa using archive blood smears.) 第79回日本寄生虫学会大会 2010年5月20~21日, 旭川市.

35) 大前比呂思, 中澤港, Suraj Eka 伊藤誠, 長岡史晃, 木村英作, 亀井喜世子, 山内太郎, Bernard Bakote' e. ソロモン諸島におけるマラリア疫学調査への尿診断法の応用 -2 第79回日本寄生虫学会 2010年5月20~21日, 旭川市

36) 桐木雅史, 林尚子, Muth Sinuon, Doung Socheat, Viroj Kitikoon, 千種雄一, 大前比呂思, 松田肇. カンボジア・クラチェ県におけるメコン住血吸虫症疫学調査. 第79回日本寄生虫学会大会 2010年5月20日~21日, 旭川

37) 大前比呂思, 千種雄一, Sy OS, Keang H, Olveda R. 東南アジアの住血吸虫症の超音波検査診断基準の国際的標準化における問題点. 第70回日本寄生虫学会東日本支部大会 2010年10月2日, 栃木県壬生町

38) Kwansa-Bentum B., 朝日博子, 熊谷貴, 北村圭, William, K.A., 太田伸生. Expression level of Plasmodium falciparum chloroquine resistant transporter gene after exposing parasite to chloroquine in vitro

第79回日本寄生虫学会大会 2010年5月20日~21日, 旭川市